

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DANIELLE CARPINÉ

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILME EMULSIONADO  
BIODEGRADÁVEL PRODUZIDO A PARTIR DE PROTEÍNA ISOLADA DE SOJA,  
ÓLEO DE COCO E SURFACTANTES NATURAIS

CURITIBA  
2015

DANIELLE CARPINÉ

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILME EMULSIONADO  
BIODEGRADÁVEL PRODUZIDO A PARTIR DE PROTEÍNA ISOLADA DE SOJA,  
ÓLEO DE COCO E SURFACTANTES NATURAIS

Tese apresentada como requisito parcial à  
obtenção do grau de Doutor em Engenharia de  
Alimentos no curso de Pós-Graduação em  
Engenharia de Alimentos, Setor de Tecnologia,  
da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Rogério Mafra  
Co-orientadora: Profa. Dra. Larissa Canhadas  
Bertan

CURITIBA  
2015

---

C298d

Carpiné, Danielle

Desenvolvimento e caracterização de filme emulsionado biodegradável produzido a partir de proteína isolada de soja, óleo de coco e surfactantes naturais/ Danielle Carpiné. – Curitiba, 2015.

116 f. : il. color. ; 30 cm.

Tese - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, 2015.

Orientador: Marcos Rogério Mafra – Co-orientador: Larissa Canhadas Bertan.

Bibliografia: p. 92-112.

1. Biopolímeros. 2. Proteínas. 3. Lipídios. 4. Soja - Bioquímica. 5. Yucca schidigera. I. Universidade Federal do Paraná. II. Mafra, Marcos Rogério. III. Bertan, Larissa Canhadas. IV. Título.

CDD: 668.9


---

**DANIELLE CARPINÉ**

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILME  
BIODEGRADÁVEL EMULSIONADO PRODUZIDO A PARTIR DE  
PROTEÍNA ISOLADA DE SOJA, ÓLEO DE COCO E  
SURFACTANTES NATURAIS**

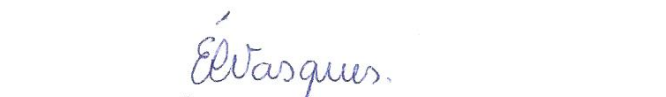
Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:

Orientador:

  
Prof. Dr. MARCOS ROGÉRIO MAFRA  
Setor de Tecnologia, UFPR

  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. MARIANNE AYUMI SHIRAI  
Campus Campo Mourão, UTFPR

  
Dr<sup>a</sup>. LUCIANA DE SOUZA NEVES ELLENDERSEN  
Setor de Tecnologia, UFPR

  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. ÉRIKA DE CASTRO VASQUES  
Campus Jandaia do Sul, UFPR

  
Prof. Dr. VITOR RENAN DA SILVA  
Setor de Tecnologia, UFPR

Curitiba, 09 de julho de 2015.

Dedico este trabalho aos meus pais, José e Rosângela, por me proporcionarem a educação, carinho e incentivo, a minha irmã Ariane pelo apoio incondicional nesta longa trajetória, ao meu esposo João Luiz por seu amor e parceria na vida profissional e ao nosso filho que não ainda nasceu, mas já enche o nosso mundo de alegria e esperança.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pelas oportunidades que foram dadas na vida, por ser meu refúgio, minha rocha e minha segurança. Agradeço por guiar meus passos, por me dar força interior para superar as dificuldades e direcionar o caminho das nas horas incertas.

Meus sinceros agradecimentos ao meu esposo João por apoiar e compartilhar sonhos. Agradeço por todo amor e parceria nessa longa jornada. Você faz parte, de fato, desta tese.

Agradeço as meus pais, José e Rosângela, minha irmã Ariane e demais familiares, pelo fortalecimento moral dispendido por vocês. Agradeço a paciência e principalmente pelas orações, que muito me ajudaram e fortaleceram.

Ao programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos (PPGEAL) pela oportunidade de realização deste trabalho e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte financeiro.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcos Mafra por acreditar no meu trabalho, pelo compartilhamento de experiências profissionais e pessoais, palavras de incentivo e pela amizade. Agradeço por me fazer olhar sempre adiante, mesmo frente as mais adversidades.

À minha co-orientadora, Prof. Dra. Larissa Canhadas Bertan, por todos os ensinamentos, pelas valiosas trocas de experiências e por me ajudar a manter o mesmo brilho no olhar. Agradeço por me incentivar e mostrar como a área de filmes biodegradáveis é recompensadora.

Aos professores convidados a compor a banca de defesa, Prof. Dra. Marianne Ayumi Shirai, Dra. Luciana de Souza Neves Ellendersen, Prof. Dra. Érika de Castro Vasques e ao Prof. Dr. Vitor Renan da Silva, pela disponibilidade imediata em compor esta banca e pelas contribuições acerca do trabalho.



Aos demais professores do PPGEAL, em especial à Prof. Dra. Maria Lúcia Masson, por acreditar no potencial do meu trabalho e por toda a ajuda no decorrer das atividades.

Aos técnicos pela realização e suporte das análises e ao secretário Paulo Krainski pela assistência com as questões burocráticas.

Ao centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná pela realização dos ensaios de caracterização morfológica das amostras.

À IMCOPA Importação Exportação e Indústria de Óleos pelo fornecimento de matéria-prima para a elaboração deste trabalho.

Agradeço as meus queridos amigos, companheiros do LATOS, Eriel e aos demais da pós-graduação que participaram de alguma forma desta história, amigos estes que tive a oportunidade de dividir alegrias, angústias e ótimas conversas. A amizade e o companheirismo de vocês são imensuráveis.

Às minhas amigas, companheiras de longa estrada, Aline, Cátia, Giovanna, Marlene e Érika. Verdadeiros amigos são como estrelas, nem sempre os vemos, mas sabemos que sempre estarão lá.

## RESUMO

Embalagens produzidas a partir de biopolímeros, como proteínas e lipídios, tornaram-se alvo de pesquisas nos últimos anos e se mostram como alternativas sustentáveis na substituição parcial ou completa dos derivados de petróleo. Estudos demonstram que proteínas apresentam capacidade para formar filmes com propriedades mecânicas adequadas e com boa resistência a permeação de gases. Entretanto, estas embalagens são suscetíveis às condições ambientais, principalmente a umidade relativa, inviabilizando sua aplicação em uma possibilidade de produtos. A adição de lipídios pode minimizar a difusão de água na estrutura do filme devido ao aumento na hidrofobicidade da matriz. A dispersão dos lipídios pode ser melhorada pela adição de surfactantes naturais, levando a formação de filmes emulsionados. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar filmes emulsionados produzidos a partir de proteína isolada de soja (PIS), incorporado com óleo de coco (OC) e surfactantes naturais (lecitina de soja, LS, e extrato de *Yucca schidigera*, YS) produzidos pelo método “*casting*”. O efeito da incorporação do OC e dos surfactantes foi investigado sobre as propriedades físicas (opacidade e solubilidade), mecânicas (resistência à tração e alongação), de barreira ao vapor de água (PVA), térmicas (análise termogravimétrica) e morfológicas (microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier, FTIR). As propriedades dos filmes emulsionados foram comparadas às de um filme elaborado sem a adição de OC e surfactantes (Controle). Na segunda fase do trabalho, o potencial de aplicação dos filmes elaborados com LS e OC foi investigado na produção de sachês para armazenamento de azeite de oliva comestível. De um modo geral, todas as propriedades foram influenciadas pela natureza do surfactante, principalmente pela sua solubilidade. A YS é mais solúvel em água e permitiu sua melhor dispersão na matriz quando comparada à LS. A permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi a propriedade mais influenciada pela natureza do surfactante, sendo sua redução somente possível com a utilização de YS. Comparado ao filme controle, os filmes adicionados de OC e YS apresentaram uma redução de 35,36% na PVA. O óleo de coco promoveu a flexibilidade dos filmes, independente do surfactante utilizado, sendo uma maior alongação verificada com a utilização de LS. A opacidade dos filmes foi mais influenciada pela concentração do OC do que pelos surfactantes, onde um aumento na proporção de OC resultou na diminuição da transparência destes filmes. As análises morfológicas e de FTIR confirmaram modificações na estrutura dos filmes emulsionados. A estabilidade do azeite embalado nos sachês foi monitorado pelo seu índice de peróxidos (IP) durante o período de estocagem de 28 dias. Os sachês elaborados com os filmes emulsionados se mantiveram íntegros durante todo período de estocagem, e ao final do período, o IP do azeite não atingiu o limite máximo regulado pela legislação vigente. Os resultados obtidos neste trabalho podem ser úteis para futuras aplicações em escala industrial ou para o aprimoramento tecnológico na área de filmes emulsionados.

**Palavra-Chave:** Biopolímeros, proteína, lipídios, lecitina de soja, *Yucca schidigera*, *casting*.



## ABSTRACT

Packages produced from biopolymers, such as proteins and lipids, have become the subject of researches in recent years, showing to be sustainable alternatives as partial or complete replacements of petroleum derivatives. Studies show that proteins have the ability to form films with adequate mechanical properties and good gas permeation resistance. However, these packages are susceptible to environmental conditions, particularly the moisture in the environment, limiting their application in a possibility of products. The addition of lipids can minimize the water diffusion in the film structure due to the increased hydrophobicity of the matrix. The dispersion of lipids can be improved by adding natural surfactants, which leads to the formation of emulsified films. In this sense, the aim of this study was to develop and characterize emulsified films made from soy protein isolate (PIS), incorporated with coconut oil (OC) and natural surfactants (soy lecithin, LS, and *Yucca schidigera* extract, YS) made by the "casting" method. The effect of the incorporation of OC and surfactants on the physical (opacity, and solubility), mechanical (tensile strength and elongation), barrier to water vapor (PVA), thermal (thermogravimetric analysis) and morphological properties (scanning electron microscopy and Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR) was investigated. The properties of the emulsified films were compared to those of a film prepared without the addition of OC and surfactants (Control). In the second phase of this work, the applicability of the films with added LS and OC was investigated in the production of sachets for edible olive oil. In general, all properties were influenced by the surfactant nature, particularly by its solubility. The YS is more soluble in water and allowed a better dispersion in the matrix when compared to LS. The water vapor permeability (PVA) was the property most influenced by the surfactant nature, being its reduction only possible when YS was used. Compared to the control film, the films with added OC and YS were 35.36% lower in PVA. Coconut oil promoted flexibility of the films, regardless of surfactant used, with greater elongation verified using LS. The opacity of the films had greater influence by the OC than by surfactants concentration, where an increase in OC proportion resulted in a decrease in films transparency. The morphological and FTIR analyses confirmed structural modifications in the emulsified films, when compared to the film without the addition of these components. The stability of the oil packaged in the sachets was monitored by the peroxide value (IP) during a 28-day storage period. The sachets made of the emulsified films remained intact throughout the storage period, and at the end of the period, the IP of the oil has not reached the maximum limit set by law. The results of this study may be useful for future applications in industrial scale or for technological improvement in the emulsified films area.

**Keywords:** Biopolymers, protein, lipids, soy lecithin, *Yucca schidigera*, casting.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 FORMAÇÃO DE FILMES COMESTÍVEIS POR “CASTING”: (A): ESPALHAMENTO DA SOLUÇÃO FORMADORA NO SUPORTE; (B) FILME OBTIDO APÓS A SECAGEM -----	21
FIGURA 2 FORMAÇÃO DE COBERTURAS COMESTÍVEIS. (A): SECAGEM DA SOLUÇÃO FORMADORA NA SUPERFÍCIE DE BANANAS <i>IN NATURA</i> ; (B) ASPECTO GERAL DA FRUTA APÓS A COBERTURA -----	21
FIGURA 3 COMPONENTES EMPREGADOS NA FORMAÇÃO DOS FILMES/COBERTURAS COMESTÍVEIS BIODEGRADÁVEIS -----	22
FIGURA 4 ESTRUTURA DO GLICEROL -----	29
FIGURA 5 ESTRUTURA BÁSICA DOS PRINCIPAIS COMPONENTES DA LECITINA DE SOJA-----	31
FIGURA 6 ESTRUTURA MOLECULAR DE QUILLAJA SAPONINAS. R1 - R4 REPRESENTAM GRUPOS DE AÇÚCARES IGUAIS OU DIFERENTES.-----	33
FIGURA 7 PRINCIPAIS SAPONINAS DO TIPO ESTEROIDAL PRESENTES NO EXTRATO DE YS: (A) ESMILAGENINA E (B) SARSASAPOGENINA.-----	34
FIGURA 8 ESQUEMA SIMPLIFICADO DO EFEITO DOS SURFACTANTES NOS FILMES EMULSIONADOS DE GELATINA E ÓLEOS ESSENCIAIS-----	40
FIGURA 9 FLUXOGRAMA DE METODOLOGIA DE ELABORAÇÃO DOS FILMES EMULSIONADOS PRODUZIDOS A PARTIR DE PIS, GLICEROL, LS E OC. -----	54
FIGURA 10 FLUXOGRAMA DE METODOLOGIA DE ELABORAÇÃO DOS FILMES EMULSIONADOS PRODUZIDOS A PARTIR DE PIS, GLICEROL, YS E OC. -----	55
FIGURA 11 SACHÊS PARA ARMAZENAMENTO DE AZEITE DE OLIVA PARA CONSUMO EM PORÇÕES INDIVIDUAIS PRODUZIDOS A PARTIR DE FILMES EMULSIONADOS DE PIS, GLICEROL, ETANOL, LS E ÓLEO DE COCO.-----	60
FIGURA 12 DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS OPERACIONAIS – ESCOLHA DO PH: (A) FILME CONTROLE PRODUZIDO EM PH NEUTRO (6,5) E (B) pH (9,0) -----	63

FIGURA 13 MICROGRAFIAS DO FILME CONTROLE: (A) SEM PROCESSO DE HOMOGENEIZAÇÃO; (B) SUBMETIDOS AO PROCESSO DE HOMOGENEIZAÇÃO	64
FIGURA 14 OPACIDADE DO FILME CONTROLE E DOS FILMES EMULSIONADOS PRODUZIDOS COM OC E DOIS TIPOS DE SURFACTANTES: LS OU EXTRATO DE YS.	70
FIGURA 15 PVA DO FILME CONTROLE E DOS FILMES EMULSIONADOS PRODUZIDOS COM OC E DOIS TIPOS DE SURFACTANTES: LS OU EXTRATO DE YS.	71
FIGURA 16 ELONGAÇÃO (ELO %) E RT DO FILME CONTROLE E DOS FILMES EMULSIONADOS PRODUZIDOS COM OC E DOIS TIPOS DE SURFACTANTES: LS OU EXTRATO DE YS.	75
FIGURA 17 FILMES EMULSIONADOS UTILIZADOS PARA EMBALAR ÓLEO DE OLIVA (A), FOLHAS DE ERVA-MATE (B) E BANANA IN NATURA(C).	78
FIGURA 18 CURVAS DE (A) TGA E (B) DTG PARA OS FILMES CONTROLE E PARA OS FILMES EMULSIONADOS.	78
FIGURA 19 MICROGRAFIAS OBTIDAS POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV): FILME CONTROLE (1A-C), FILME EMULSIONADO UTILIZANDO LS COMO SURFACTANTE (2A-C) E FILME EMULSIONADO UTILIZANDO EXTRATO DE YS COMO SURFACTANTE (3A-C)	81
FIGURA 20 ESPECTROS DE FTIR PARA O FILME CONTROLE E OS FILMES EMULSIONADOS PRODUZIDOS COM LS (LECITINA DE SOJA) OU YS.	84

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 COMPOSIÇÃO APROXIMADA DE AMINOÁCIDOS DE AMOSTRAS COMERCIAIS DE PROTEÍNA ISOLADA DE SOJA.....	25
TABELA 2 MÉTODOS DE ELABORAÇÃO E PROPRIEDADES DE FILMES ELABORADOS A PARTIR DE PROTEÍNA ISOLADA DE SOJA.....	27
TABELA 3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA APROXIMADA DA LECITINA DE SOJA COMERCIAL NATURAL .....	31
TABELA 4 PROPRIEDADES FÍSICAS DA LECITINA DE SOJA COMERCIAL.....	32
TABELA 5 ESTUDOS ENVOLVENDO A ADIÇÃO DE LIPÍDIOS EM MATRIZES PROTEICAS.....	36
TABELA 6 COMPOSIÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS DO ÓLEO DE COCO EXTRA VIRGEM*.....	37
TABELA 7 PROPRIEDADES FÍSICAS, MECÂNICAS E PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA DE FILMES BIODEGRADÁVEIS E SINTÉTICOS .....	47
TABELA 8 ESPECIFICAÇÕES TÉCNICAS DA LECITINA DE SOJA COMERCIAL.....	50
TABELA 9 ESPECIFICAÇÕES TÉCNICAS DO EXTRATO DE <i>YUCCA SCHIDIGERA</i> .....	51
TABELA 10 PARÂMETROS UTILIZADOS PARA DETERMINAÇÃO DAS CONDIÇÕES OPERACIONAIS DE ELABORAÇÃO DOS FILMES .....	51
TABELA 11 FORMULAÇÃO DOS FILMES PRODUZIDOS A PARTIR DE PIS, GLICEROL, OC E SURFACTANTES E VOLUME DE SOLUÇÃO FORMADORA (SSF) UTILIZADO EM CADA FORMULAÇÃO.....	53
TABELA 12 EFEITO DA ETAPA ADICIONAL DE HOMOGENEIZAÇÃO DE ALTA ROTAÇÃO (HAR) NAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E DE BARREIRA NO FILME CONTROLE. ....	64
TABELA 13 VOLUME DE SOLUÇÃO (SSF) UTILIZADO EM CADA FORMULAÇÃO E RESPECTIVAS ESPESSURAS OBTIDAS PARA O FILME CONTROLE E OS FILMES EMULSIONADOS.....	67

TABELA 14 SOLUBILIDADE DO FILME CONTROLE E DOS FILMES EMULSIONADOS .....	68
TABELA 15 EVENTOS TÉRMICOS RELACIONADOS À ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA DO FILME CONTROLE E DOS FILMES EMULSIONADOS COM OC, LS OU YS. ....	79
TABELA 16 ANÁLISE DE PERÓXIDOS DO AZEITE DE OLIVA EMBALADO NO SACHÊ DE FILMES EMULSIONADO COM LS. ....	87

## LISTA DE SIGLAS

ABIPLAST	-	Associação Brasileira da Indústria do Plástico
APCC	-	Asian and Pacific Coconut Community
ASTM	-	American Society for Testing and Materials
CONAB	-	Companhia Nacional de Abastecimento
ELO	-	Elongação
FTIR	-	Espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier
Gli	-	Glicerol
HLB	-	Balanço Hidrófilo-Liófilo
IP	-	Índice de Peróxidos
LS	-	Lecitina de Soja
MEV	-	Microscopia Eletrônica de Varredura
OC	-	Óleo de coco
PIS	-	Proteína Isolada de Soja
pH	-	Potencial hidrogeniônico
PVA	-	Permeabilidade ao vapor de água
RT	-	Resistência a Tração
SOL	-	Solubilidade em água
Surf	-	Surfactantes
TGA	-	Análise Termogravimétrica
TPM	-	Triglicerídeos de peso molecular médio
UR	-	Umidade Relativa
YS	-	<i>Yucca schidigera</i>

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>16</b>
1.1	OBJETIVO GERAL	17
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>19</b>
2.1	FILMES BIODEGRADÁVEIS COMESTÍVEIS	19
2.2	PROCESSOS DE ELABORAÇÃO	20
2.3	MATÉRIAS-PRIMAS UTILIZADAS EM FILMES BIODEGRADÁVEIS	21
2.3.1	PROTEÍNAS	22
2.3.2	PLASTIFICANTES	28
2.3.3	SURFACTANTE	29
2.3.4	LIPÍDIOS	35
2.4	FILMES EMULSIONADOS	39
2.5	PROPRIEDADES E CARACTERÍSTICAS DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS	42
2.5.1	ESPESSURA	42
2.5.2	OPACIDADE	42
2.5.3	SOLUBILIDADE EM ÁGUA	43
2.5.4	PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA E AO OXIGÊNIO	44
2.5.5	PROPRIEDADES MECÂNICAS	45
2.5.6	PROPRIEDADES FÍSICAS, MECÂNICA E DE BARREIRA DE FILMES BIODEGRADÁVEIS	46
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>50</b>
3.1	MATERIAL	50
3.2	ENSAIOS PRELIMINARES	51
3.3	ELABORAÇÃO DOS FILMES EMULSIONADOS	52
3.3.1	ELABORAÇÃO DE FILME EMULSIONADO UTILIZANDO LS	53
3.3.2	ELABORAÇÃO DE FILME EMULSIONADO UTILIZANDO EXTRATO DE YS	55
3.4	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES	56
3.4.1	ASPECTO VISUAL	56
3.4.2	ESPESSURA	56
3.4.3	OPACIDADE	56
3.4.4	PERMEABILIDADE AO VAPOR D'ÁGUA (PVA)	57
3.4.5	SOLUBILIDADE EM ÁGUA (SOL)	57
3.4.6	PROPRIEDADES MECÂNICAS	58
3.4.7	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)	59
3.4.8	PROPRIEDADES MORFOLÓGICAS	59
3.4.8.1	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	59
3.4.8.2	ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO (FTIR)	59



3.5	PRODUÇÃO DE SACHÊS PARA ARMAZENAMENTO DE AZEITE DE OLIVA	60
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	61
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>62</b>
4.1	RESULTADOS PRELIMINARES	62
4.1.1	DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS OPERACIONAIS	62
4.1.2	DEFINIÇÃO DAS FORMULAÇÕES DOS FILMES EMULSIONADOS	65
4.2	RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
4.2.1	ESPESSURA	66
4.2.2	SOLUBILIDADE	68
4.2.3	OPACIDADE	69
4.2.4	PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA (PVA)	71
4.2.5	PROPRIEDADES MECÂNICAS	74
4.2.6	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)	78
4.2.7	PROPRIEDADES MORFOLÓGICAS	80
4.2.7.1	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA	80
4.2.7.2	ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO (FTIR)	83
4.2.8	PRODUÇÃO DE SACHÊS PARA ARMAZENAMENTO DE AZEITE DE OLIVA	86
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>89</b>
<b>6</b>	<b>SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS</b>	<b>91</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>92</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A indústria de plásticos está em constante evolução para atender as demandas que surgem a todo dia. Como resultado desta ação, a produção anual de plásticos alcançou 288 milhões de toneladas em 2012 (PLASTICS EUROPE, 2015). A China respondeu por 23,96% desta produção, seguido da Europa com 20,5% e do Brasil com 6% deste total. No Brasil, São Paulo é o estado com maior representatividade das empresas de plásticos e transformados (44,6%), seguido de Santa Catarina (11,0%), Rio Grande do Sul (8,5%) e do Paraná (7,3%) (ABIPLAST, 2015).

Os materiais plásticos vêm ganhando cada vez mais espaço no mercado para embalagens de alimentos, sendo esse setor responsável por 16% de toda a produção de plásticos no país (ABIPLAST, 2015). Entretanto, essa crescente demanda gera também um maior consumo de matérias primas provenientes de fontes não renováveis, além de grande geração de resíduos. Alternativas sustentáveis, como a substituição dos constituintes do plástico por biopolímeros, tem sido o alvo de pesquisas no sentido de reunir esforços para minimizar a demanda por constituintes do petróleo ou reduzir a poluição gerada pela disposição incorreta das embalagens convencionais. A vantagem de utilizar embalagens biodegradáveis se refere principalmente aos menores impactos ambientais gerados durante o seu ciclo de vida.

Os filmes biodegradáveis são embalagens produzidas a partir de fontes renováveis e biodegradáveis, como biopolímeros. Dentre os biopolímeros, as proteínas apresentam propriedades funcionais e estruturais que possibilitam o seu emprego como matriz principal na estrutura de filmes biodegradáveis. A proteína isolada de soja (PIS) se destaca entre as possíveis matrizes, devido a sua produção expressiva no Brasil (94 milhões de toneladas) e no mundo (315 milhões de toneladas) (USDA, 2015) e à habilidade relatada por pesquisadores para formação de filmes. Entretanto, filmes elaborados a base de proteínas apresentam como desvantagem a sua alta higroscopicidade, o que aumenta a difusão de água pela estrutura e consequentemente ao alimento embalado.

Inúmeros estudos têm sido realizados nas últimas décadas com o objetivo de melhorar as propriedades dos filmes, e como resultado, a combinação de mais de um tipo de matriz, como a inclusão de um componente hidrofóbico, aliados aos processos de obtenção tem mostrado resultados satisfatórios.

Neste sentido, óleo de coco (OC) foi escolhido como componente hidrofóbico devido sua estabilidade oxidativa, disponibilidade e a vasta utilização na indústria. A fim de melhorar sua dispersão na matriz foram utilizados dois surfactantes de naturezas distintas e diferentes graus de hidrofobicidades, lecitina de soja (LS, insolúvel em água) e *Yucca Schidigera* (YS, solúvel em água).

Diante do exposto, este trabalho visou desenvolver e trabalhar no aprimoramento de embalagens biodegradáveis produzidas a partir de fontes renováveis, como forma de encontrar alternativas sustentáveis que possam contribuir com a minimização do impacto ambiental gerado por embalagens convencionais.

## 1.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar filmes emulsionados biodegradáveis, a partir de PIS, glicerol e OC com diferentes surfactantes e avaliar sua aplicabilidade como embalagem para produtos alimentícios.

## 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver a metodologia para produção de filmes emulsionados pelo método “*casting*” (via úmida) utilizando proteína isolada de soja como matriz principal, glicerol como plastificante, óleo de coco como componente hidrofóbico e, lecitina de soja ou *Yucca schidigera* como agentes surfactantes naturais;
- Investigar o efeito do óleo de coco e dos surfactantes naturais nas propriedades funcionais e na estabilidade térmica dos filmes emulsionados;
- Avaliar as propriedades morfológicas dos filmes, tipos de interação e compatibilidade entre os componentes na matriz;

- Determinar a aplicabilidade dos filmes emulsionados com LS, na produção de sachês para armazenamento de azeite de oliva comestível.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 FILMES BIODegradáveis Comestíveis

Nos últimos anos houve um crescente interesse no desenvolvimento de embalagens biodegradáveis produzidas a partir de recursos renováveis, especialmente na área de filmes biodegradáveis. Plásticos biodegradáveis são embalagens no qual sua degradação resulta da ação direta de microrganismos, tais como bactérias, fungos e algas, de ocorrência natural no meio (ASTM D883-12, 2015).

Biofilmes/filmes biodegradáveis podem ser produzidos a partir de proteínas (TONGNUANCHAN, BENJAKUL e PRODPRAN, 2014; CHO *et al.*, 2007; BERTAN *et al.*, 2005a,b), lipídios (CHIUMARELLI e HUBINGER, 2014), polissacarídeos (ANTONIOU *et al.*, 2014) ou partir de uma combinação destes polímeros (KOWALCZYK e BARANIAK, 2014; BINSI, RAVISHANKAR e GOPAL, 2013).

Filmes comestíveis ou coberturas vêm sendo aplicadas há décadas para proteger alimentos e tornar os produtos atrativos ao consumidor. Desde o início do século XX, os filmes comestíveis têm sido utilizados para evitar a perda de água nos alimentos e adicionar brilho à superfície de frutas e hortaliças (BALDWIN e HAGENMAIER, 2012; PAVLATH e ORTS, 2009). Atualmente, pesquisas envolvendo o desenvolvimento de embalagens ativas permitem aumentar a estabilidade dos produtos estocados devido à adição de componentes com atividade antimicrobiana (LEE *et al.*, 2015; PASSARINHO *et al.*, 2014; PIRES *et al.*, 2013). Embalagens inteligentes podem ainda ser utilizadas como indicadores da qualidade dos alimentos armazenados, como é o caso dos filmes produzidos como pigmentos naturais que modificam sua cor após a variações no pH dos alimentos (VEIGA-SANTOS, DITCHFIELD e TADINI, 2011). Os filmes ainda podem ser utilizados como agentes encapsulantes para aromas e óleos essenciais e podem proporcionar ou acentuar atributos sensoriais adicionais aos alimentos, como brilho e cor (SAREMNEZHAD *et al.*, 2011; POPÓVIC *et al.*, 2012).

## 2.2 PROCESSOS DE ELABORAÇÃO

Filmes comestíveis são estruturas independentes (finas películas) que apresentam aparência e funções protetoras semelhantes aos filmes poliméricos sintéticos, mas são produzidos a partir de polímeros naturais (proteínas, polissacarídeos, lipídeos). Coberturas são finas camadas formadas a partir de uma solução de polímeros naturais, os quais são aplicados e formados diretamente sobre a superfície do alimento após a evaporação do solvente (THARANATHAN, 2003; KROCHTA, 2009; PAVLATH e ORTS, 2009).

O processo de formação da estrutura dos filmes depende da estrutura dos biopolímeros, do solvente utilizado, da temperatura aplicada no processo e da presença de outras moléculas, como por exemplo, de plastificantes e lipídeos. Associações inter e intramoleculares e/ou ligações cruzadas das cadeias dos polímeros geralmente estão envolvidas na formação desses revestimentos, formando uma rede tridimensional que aprisiona e imobiliza o solvente (THARANATHAN, 2003). Os filmes comestíveis podem ser obtidos por meio de vários processos, dentre os principais mecanismos de produção estão: *casting*, revestimento por imersão e extrusão.

(a) *Casting* ou evaporação do solvente: consiste em espalhar a solução aquosa formadora de filme sobre uma superfície lisa e evaporar o solvente (aquoso e/ou etanólico) em condições ambientes ou em umidade relativa controlada (FIGURA 1A-B) (DANGARAN, TOMASULA e QI, 2009; KROCHTA, 2009). Filmes com umidade final de 5-8% facilitam a sua retirada do suporte (THARANATHAN, 2003). A técnica de *casting* é usualmente utilizada em escala laboratorial nas etapas iniciais de desenvolvimento das embalagens biodegradáveis (DANGARAN, TOMASULA e QI, 2009).

(b) Revestimento por imersão ou aspersão – “Cobertura”: Coberturas são revestimentos geralmente utilizados em frutas, vegetais e produtos cárneos. Nesta técnica, a solução formadora de filme é pulverizada sobre a superfície do alimento, ou o alimento é imerso nesta solução e que, após a sua secagem, forma a camada protetora na superfície do alimento (THARANATHAN, 2003; PAVLAT e

ORTS, 2009; KROCHTA, 2009). A FIGURA 2 ilustra um exemplo de revestimento por imersão em bananas *in natura*.

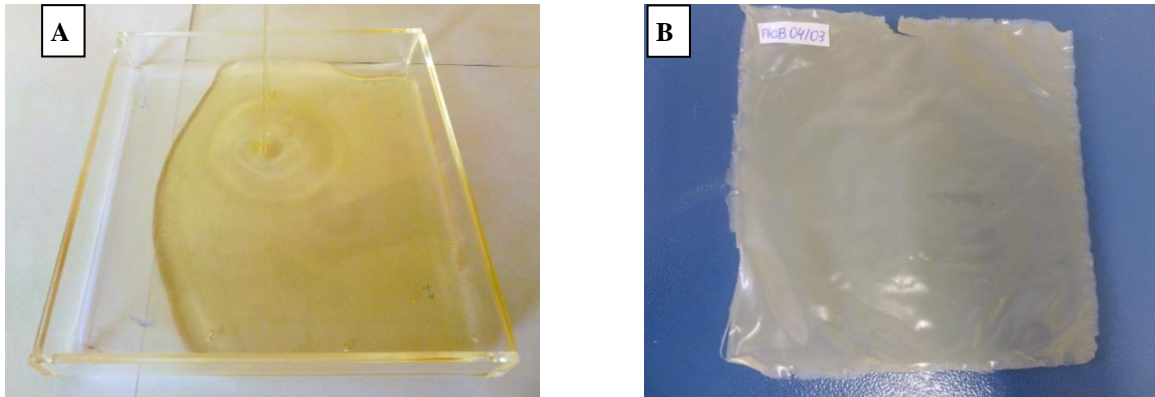


FIGURA 1 FORMAÇÃO DE FILMES COMESTÍVEIS POR “CASTING”: (A): ESPALHAMENTO DA SOLUÇÃO FORMADORA NO SUPORTE; (B) FILME OBTIDO APÓS A SECAGEM (FONTE: O AUTOR).

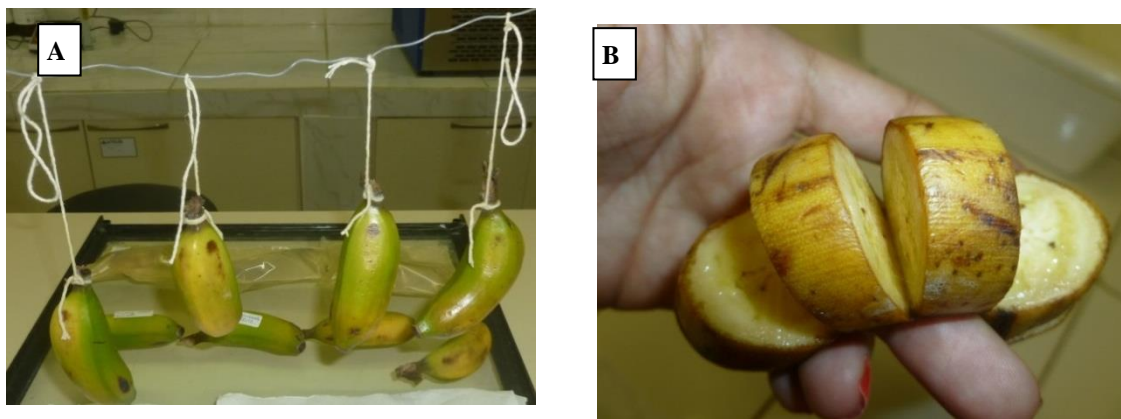


FIGURA 2 FORMAÇÃO DE COBERTURAS COMESTÍVEIS. (A): SECAGEM DA SOLUÇÃO FORMADORA NA SUPERFÍCIE DE BANANAS *IN NATURA*; (B) ASPECTO GERAL DA FRUTA APÓS A COBERTURA (FONTE: O AUTOR).

(c) Extrusão: A extrusão é o processo pelo qual o polímero é fundido por meio do calor e forçado a passar por um molde, de modo a se obter a forma final desejada (BELYAMANI *et al.*, 2015; KRISHNA, NINDO e MIN, 2012).

## 2.3 MATÉRIAS-PRIMAS UTILIZADAS EM FILMES BIODEGRADÁVEIS

As matérias-primas utilizadas na elaboração dos filmes comestíveis devem ser reconhecidas como segura ao consumo (GRAS) ou atender normas rigorosas aplicadas a todos os ingredientes alimentares (KROCHTA, 2009). Os filmes são obtidos a partir de três componentes principais: agente formador do filme



(macromolécula), solvente (água, etanol, água/etanol, entre outros), e plastificante (sorbitol, glicerol, etc). Podem ainda ser utilizados outros componentes como, agente ajustador de pH (ácido acético e hidróxido de amônio) e agentes reticulantes, como por exemplo, gluteraldeído, formaldeído (FIGURA 3) (PAVLATH e ORTS, 2009).

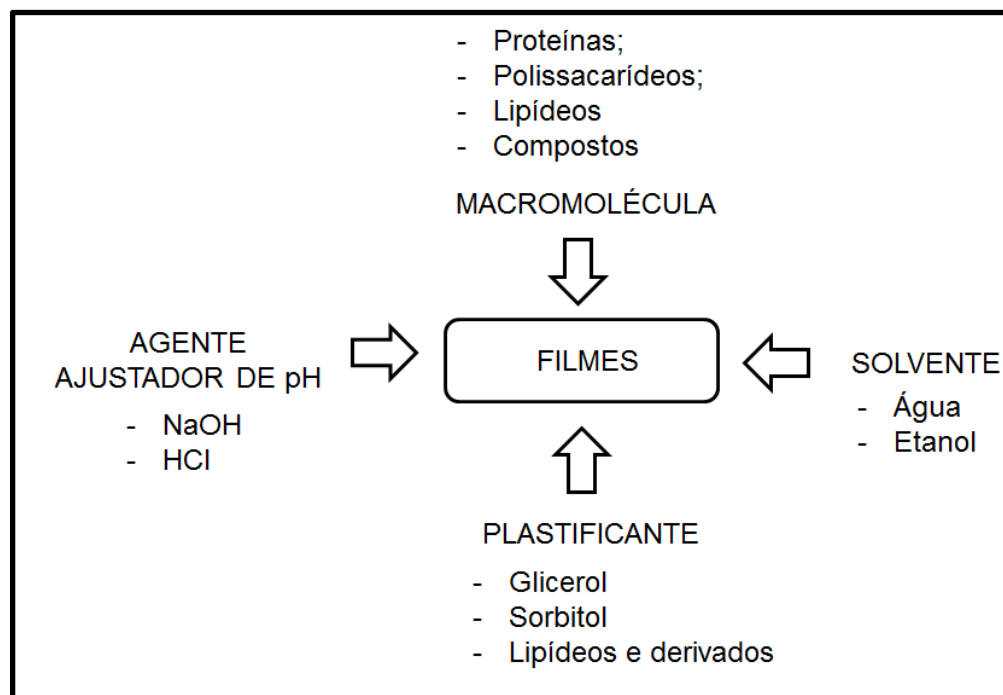


FIGURA 3 COMPONENTES EMPREGADOS NA FORMAÇÃO DOS FILMES/COBERTURAS COMESTÍVEIS BIODERGRADÁVEIS (FONTE: PAVLATH e ORTS, 2009).

### 2.3.1 Proteínas

Proteínas podem ser definidas como polímeros naturais capazes de formar estruturas amorfas tridimensionais estabilizadas principalmente por ligações não covalentes (CUQ, GONTARD e GUILBERT, 1998). Essas macromoléculas orgânicas são constituídas por 21 aminoácidos primários, unidos entre si por ligações amídicas, denominadas ligações peptídicas (NELSON e COX, 2002, DAMODARAN, 2008). As proteínas possuem estruturas espaciais, que podem ser organizadas em quatro níveis crescentes de complexidade. A estrutura primária é caracterizada pela ordem sequencial linear de aminoácidos e determina sua estrutura tridimensional, sua estabilidade termodinâmica, padrão de distribuição de cargas na superfície, distribuição dos grupamentos hidrofóbicos/hidrofílicos na superfície no interior de sua estrutura (DAMODARAN, 1994).

A estrutura secundária refere-se aos arranjos estáveis dos resíduos de aminoácidos, os quais são estabilizados por ligações de hidrogênio, de van der Waals, interações eletrostáticas e pontes de dissulfeto. A estrutura terciária descreve os desdobramentos tridimensionais das cadeias polipeptídicas, sendo estabilizada por interações intermoleculares entre as cadeias laterais. A estrutura quaternária é o arranjo espacial de duas ou mais subunidades polipeptídicas de uma proteína (NELSON e COX, 2002; DAMODARAN, 2008). Devido a sua estrutura e propriedades intrínsecas, as proteínas apresentam propriedades funcionais que permitem a formação de filmes (HAMMANN e SCHMID, 2014; DANGARAN, TOMASULA e QI, 2009).

Os filmes biodegradáveis originados de fontes proteicas são formados a partir de rede macromoleculares contínuas, de estrutura relativamente ordenada e de baixa umidade. A formação da estrutura do filme é dependente do número de interações entre as cadeias de proteínas, bem como da disposição e do nível estrutural de suas cadeias e das condições de fabricação dos filmes (CUQ, GONTARD e GUILBERT, 1998). Os filmes proteicos são formados/estabilizados por forças de van der Waals, ligações covalentes, pontes dissulfeto, interações eletrostáticas e pontes de hidrogênio (PÉREZ-GAGO, 2012; DANGARAN, TOMASULA e QI, 2009).

Os fatores que afetam essas interações, e consequentemente modificam as propriedades dos filmes incluem: (1) interação entre proteínas e moléculas como água, plastificantes, lipídios e outros aditivos dispersos na matriz; (2) aplicação de tratamentos físicos, como o calor, cisalhamento, pressão e irradiação; (3) adição de bases ou ácidos; (4) aplicação de tratamentos enzimáticos. A partir destes processos, as estruturas secundárias, terciárias e quaternárias podem ser modificadas para melhorar a interação da proteína com os demais componentes, e assim melhorar a estabilidade e as propriedades desses filmes (PÉREZ-GAGO, 2012; ZHANG e MITTAL, 2010).

A formação de uma matriz proteica ocorre em três etapas: (1) ruptura das ligações intermoleculares de baixa energia que estabilizam polímeros no estado nativo; (2) rearranjo e orientação das cadeias poliméricas e (3) formação de uma nova rede tridimensional estabilizada por possíveis interações que ocorrem durante a etapa de secagem dos filmes. Assim as propriedades dos filmes proteicos, como

solubilidade em água, propriedades mecânicas e de barreira, são dependentes da estrutura da rede tridimensional e das interações entre proteínas, plastificantes e os demais componentes (CUQ, GONTARD e GUILBERT, 1998).

Numerosas proteínas de origem animal e vegetal podem ser utilizadas na produção de filmes biodegradáveis, tais como proteína isolada de soja (ATARÉS *et al.*, 2010; HOPKINS *et al.*, 2015), gelatina (BERTAN *et al.*, 2005a,b; ANDREUCCETTI *et al.*, 2011), proteína de soro de leite (FERNÁNDEZ-PAN, ROYO e MATÉ, 2012; RAMOS *et al.*, 2013), glúten de trigo (MARCUIZZO *et al.*, 2010; MOJUMDAR *et al.*, 2011), proteína de milho zeína (CHO, LEE e RHEE, 2010), proteína de quinoa (VALENZUELA, ABUGOCH e TAPIA, 2013), entre outros.

#### 2.3.1.1 Proteína isolada de soja

A soja (*Glycine max* L. Merrill) é a semente oleagenosa de produção dominante no comércio mundial (WILSON, 2008). Atualmente os Estados Unidos é o maior produtor mundial de soja (108,1 milhões toneladas), sendo o Brasil o segundo, com aproximadamente 94 milhões de toneladas. Na safra de 2014/15, a produção anual de soja foi estimada em aproximadamente 315 milhões de toneladas (USDA, 2015). No Brasil, as regiões dominantes na produção de soja são o centro-oeste e a região sul (CONAB, 2015).

Baseado no teor de proteína, a soja é comercialmente disponível como farinha de soja (50 - 59% de proteína), concentrado proteico (65 - 72% de proteína) e isolado proteico (> 90% de proteína). As farinhas são obtidas pela moagem e peneiramento dos flocos de soja. Os concentrados são obtidos por extração e remoção dos açúcares solúveis a partir de flocos desengordurados, por lixiviação com ácido diluído a pH 4,5, ou por lixiviação com etanol aquoso. Os isolados protéicos de soja são obtidos pela extração das proteínas solúveis em água a pH 8-9, seguido da precipitação em pH 4,5, centrifugação e secagem (BUFFO e HAN, 2005; LIU e KOST, 2009).

A proteína de soja tem sido estudada como matriz de filmes biodegradáveis devido as suas propriedades estruturais e funcionais que permitem a formação de estruturas com características adequadas para sua utilização como embalagem (CHO *et al.*, 2007; DENAVI *et al.*, 2009; HOPKINS *et al.*, 2015). As propriedades

inerentes das proteínas as tornam excelentes materiais para formação de filmes e revestimentos biodegradáveis. A distribuição de aminoácidos carregados, polares e não polares ao longo da cadeia gera um potencial químico ao longo da estrutura, resultando em forças que levam a formação de uma matriz coesa (DANGARAN, TOMASULA e QI, 2009). Além disso, a grande diversidade de grupos funcionais derivados dos aminoácidos resulta em forças interativas capazes de melhorar a estabilidade dos filmes (HAMMANN e SCHMID 2014; DANGARAN, TOMASULA e QI, 2009). A composição aproximada de aminoácidos da proteína isolada de soja está descrita na TABELA 1.

TABELA 1 COMPOSIÇÃO APROXIMADA DE AMINOÁCIDOS DE AMOSTRAS COMERCIAIS DE PROTEÍNA ISOLADA DE SOJA

<b>Aminoácidos (AA)</b>	<b>AA (g/100 g de PIS)</b>
Alanina	4,18 - 4,26
Arginina	7,31 - 8,56
Ácido aspártico	11,23 – 12,52
Cisteína	1,19 – 1,31
Ácido glutâmico	18,86 – 19,63
Glicina	3,95 – 4,23
Histidina	2,29 – 2,66
Isoleucina	4,46 – 4,93
Leucina	7,81 – 8,21
Lisina	6,05 – 6,42
Metionina	1,24 – 1,33
Fenilalanina	4,94 – 5,28
Prolina	5,18 – 5,32
Serina	4,85 – 5,11
Treonina	3,57 – 3,76
Triptofano	1,15 – 1,39
Tirosina	3,68 – 3,93
Valina	4,92 – 5,13

FONTE: HUGHES *et al.*, 2011

A proteína isolada de soja (PIS) é um complexo de proteínas globulares, onde aproximadamente 90% são globulinas. As maiores frações das globulinas incluem a

fração 7S ( $\beta$ -conglucina) e 11S (glicina) (CHO e RHEE, 2004; RYAN *et al.*, 2008; HU *et al.*, 2013). A  $\beta$ -conglucina é menos estável ao calor que a glicina, apresentando temperaturas de desnaturação em aproximadamente 69°C e 85°C, respectivamente (KEERATI-U-RAI e CORREDIG, 2010).

A matriz do filme de PIS é formada por interações proteína-proteína catalizada pelo calor, onde as principais forças envolvidas nessas interações são ligações de dissulfeto, de hidrogênio e ligações hidrofóbicas. Assim, o aquecimento é essencial para a formação destas ligações, uma vez que altera a estrutura tridimensional das proteínas e leva a exposição dos grupos sulfídricos e as cadeias laterais hidrofóbicas (SHIH, 1998; QU *et al.*, 2015). Após a secagem, as cadeias de proteínas desnaturadas se aproximam uma das outras e se ligam por pontes de dissulfetos e interações hidrofóbicas (BUFFO e HAN, 2005).

A TABELA 2 apresenta alguns trabalhos descritos na literatura utilizando proteína de soja e as metodologias aplicadas no desenvolvimento de cada formulação. Como pode ser observado nestes estudos, a temperatura utilizada no processo é igual ou acima da temperatura de desnaturação da  $\beta$ -conglucina (acima de 60 °C). Entretanto, quando temperatura aplicada é muito superior a de desnaturação das frações proteicas, os filmes obtidos apresentam propriedades inferiores, devido à agregação da fração desnaturada 7S que ocorre em temperaturas mais baixas (JIANG *et al.*, 2012).

A formação dos filmes também é dependente do pH. Os tratamentos térmicos submetidos a condições alcalinas promovem um maior grau de desnaturação proteica comparado aos tratamentos em pH neutro (PETRUCCELLI e AÑÓN, 1994). Condições extremamente ácidas (pH < 1) ou extremamente básicas (pH > 12) afetam a formação dos filmes devido a forte repulsão das cargas negativas ou das cargas positivas nessas condições. Similar ao aquecimento, condições alcalinas favorecem a desnaturação das frações proteicas, e promovem a formação de pontes de dissulfeto no interior da estrutura dos filmes após a secagem (GENNADIOS, WELLER e TESTIN, 1993).

TABELA 2 MÉTODOS DE ELABORAÇÃO E PROPRIEDADES DE FILMES ELABORADOS A PARTIR DE PIS

Matriz*	Objetivo	Método de elaboração	Resultados
PIS (4,7%) Glicerol (1,9%)  (CHO <i>et al.</i> , 2007)	Investigar o efeito do pH nas propriedades dos filmes de PIS.	Dispersão da PIS e do glicerol em água. Ajuste do pH (7,0, 8,0 e 9,0 e 10,0). Aquecimento da solução a 90 °C por 10 min.	Os filmes preparados em condições alcalinas (pH 8-10) foram mais resistentes a ruptura e mais flexíveis. A PVA dos filmes não foi influenciado pelo pH, enquanto que a permeabilidade ao oxigênio decresceu com o aumento do pH.
PIS (4,6%) Glicerol (2,3%) SDS (Dodecil sulfato de sódio) (RHIM <i>et al.</i> , 2002)	Investigar o efeito do surfactante nas propriedades dos filmes de PIS	Dispersão da PIS e do glicerol em água destilada. Adição do surfactante e ajuste do pH da solução (10,0). Aquecimento da solução a 70 °C por 20 min.	A adição de SDS melhorou a barreira à PVA e a extensibilidade dos filmes. Foi verificada redução na resistência à ruptura e no conteúdo de umidade dos filmes.
PIS (5%) Glicerol (2%) Tween 80 Óleo de linhaça Ácido Áscorbico  (HOPKINS <i>et al.</i> , 2015)	Produzir filmes emulsionados para melhorar as propriedades mecânicas e de barreira à umidade dos filmes de PIS.	Dispersão da PIS em água em agitação constante (500 rpm) por 10 minutos. Ajuste do pH da solução (9,0). Adição do glicerol. Aquecimento da solução a 85 °C por 30 minutos, seguido de resfriamento por 45 minutos. Adição de Tween 80, óleo de linhaça e ácido ascórbico. Homogeneização da solução final a 15000 rpm por 5 minutos.	As propriedades mecânicas foram influenciadas pela incorporação de óleo: (i) aumento da elongação com o aumento da concentração de óleo; (ii) aumento da resistência à ruptura dos filmes até a concentração intermediária de óleo. Foi verificado ligeira redução da PVA e teor de umidade com adição de óleo.

\* m/m (Base úmida); PVA: Permeabilidade ao vapor d'água

### 2.3.2 Plastificantes

Plastificantes são moléculas de baixo peso molecular que podem ser adicionados a filmes biodegradáveis com o objetivo de auxiliar no processo de produção e melhorar suas propriedades mecânicas. No processamento, os plastificantes diminuem a temperatura de processamento e reduzem a aderência nos moldes. Estruturalmente os plastificantes diminuem a força intermolecular entre as cadeias de polímeros, aumentando assim a flexibilidade, a capacidade de extensão e a resistência à tração (BUFFO E HAN, 2005; SOTHORNVIT E KROCHTA, 2005; DANGARAN, TOMASULA e QI, 2009).

O mecanismo de plastificação pode ocorrer por duas vias: interna e externa. Plastificantes internos modificam quimicamente a cadeia proteica pela adição de grupos substituintes ligados por ligações covalentes. Como resultado, a adição do plastificante interno cria impedimento estérico entre as cadeias da proteína, levando ao aumento de espaços livre na estrutura e maior flexibilidade. Já os plastificantes externos diminuem a temperatura de transição vítrea das proteínas pelo mecanismo de solvatação e lubrificação das cadeias, o que leva também ao aumento de volume livre na estrutura do filme (DANGARAN, TOMASULA e QI, 2009). A capacidade de um plastificante em reduzir interações entre os hidrocoloides dependem da sua configuração molecular, número de grupos hidroxila livres e da compatibilidade do plastificante com o polímero (SANTACRUZ, RIVADENEIRA e CASTRO, 2015).

Os plastificantes utilizados na produção de filmes biodegradáveis incluem monossacarídeos, dissacarídeos ou oligossacarídeos (glicose, frutose, sacarose, entre outros) polióis incluindo glicerol, sorbitol e glicóis de polietileno, lipídios e derivados (fosfolipídeos, ácidos graxos e surfactantes) (KIM *et al.*, 2003; SOTHORNVIT e KROCHTA, 2005; ZHANG e HAN, 2006; SANTACRUZ, RIVADENEIRA e CASTRO, 2015).

Filmes de proteína de soja requerem a adição de plastificante para melhorar a flexibilidade e aumentar a sua manuseabilidade. Os plastificantes mais comumente utilizados em filmes de proteína de soja são o glicerol, o sorbitol ou uma mistura destes (WAN, KIM, e LEE, 2005; KOKOSZKA *et al.*, 2010; CHAO *et al.*, 2010).



Plastificantes com menor massa molecular são mais facilmente incorporados na matriz proteica e exibem assim melhor efeito plastificante (WAN, KIM, e LEE, 2005), como é o caso do glicerol. O glicerol (1,2,3-propanotriol) (FIGURA 4) é um composto orgânico pertencente a função álcool, líquido a temperatura ambiente (25 °C), incolor, inodoro e viscoso (ENCYCLOPAEDIA BRITANNICA, 2015). Entretanto, devido à natureza hidrofílica do glicerol sua incorporação em estruturas poliméricas aumenta permeabilidade ao vapor d'água (KIM *et al.*, 2003; SANTACRUZ *et al.*, 2015).

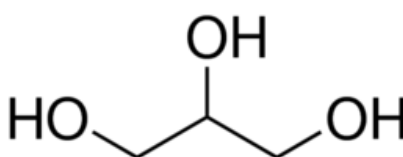


FIGURA 4 ESTRUTURA DO GLICEROL (FONTE: SIGMA-ALDRICH)

### 2.3.3 Surfactante

Surfactantes (agentes emulsificantes) são compostos orgânicos, constituídos por moléculas anfifílicas, os quais são adicionados em pequenas quantidades a uma mistura de dois líquidos imiscíveis com a finalidade de auxiliar na formação e estabilização de uma suspensão coloidal. A molécula anfifílica é composta por uma parte hidrofílica (“cabeça”) com afinidade pela fase aquosa (polar) e outra parte hidrofóbica (“cauda”) com afinidade por ácidos graxos ou solventes orgânicos (apolar). O surfactante posiciona-se na interface ar/água ou óleo/água onde atua na diminuição tensão superficial ou interfacial, respectivamente (MYERS, 2006; HASENHUETTL, 2008a)

As moléculas do surfactante têm a tendência de se agregar em micelas e reduzir a energia interfacial livre do sistema no qual se encontram. Um surfactante forma micelas em solução aquosa quando sua concentração excede um nível crítico, conhecido como concentração micelar crítica (CMC). Nessa concentração as propriedades da solução mudam drasticamente (tensão superficial, condutividade elétrica, turbidez e pressão osmótica), indicando a formação de agregados ou micelas (HIEMENZ e RAJAGOPALAN, 1997; McCLEMENTS, 1999; MYERS, 2006).

O grupamento hidrofílico (“cabeça”) pode conter heteroátomos tais como, oxigênio, nitrogênio e enxofre. A funcionalidade do grupo polar classifica o surfactante como aniônico, catiônico, anfótero ou não iônico. Os surfactantes aniônicos contêm um radical com carga negativa (exemplo, sabões e detergentes comuns) e os catiônicos carregam uma carga positiva na porção hidrofílica da molécula. Surfactantes anfóteros apresentam na mesma molécula radicais com cargas negativas e positivas, e por isso, podem assumir caráter aniônico ou catiônico dependendo do pH do meio. Os não-aniônicos não possuem cargas elétricas ligadas à estrutura, interagindo com moléculas de água por meio de ligações de hidrogênio. O grupo hidroxila é predominante nos surfactantes não-iônicos, tais como mono e diacilgliceróis, ésteres de sacarose, Tweens e Spans. Os mono e diacilgliceróis são os surfactantes mais utilizados na indústria de alimentos (MYERS, 2006; HASENHUETTL, 2008b).

De um modo geral, a parte hidrofóbica dos surfactantes é composta por uma ou mais cadeias de hidrocarbonetos alifáticos, alicíclicos ou aromáticos, saturados ou insaturados, lineares ou ramificados. As cadeias de hidrocarbonetos contêm de 8 a 22 carbonos, os quais se ligam a fase lipídica na interface óleo-água (HIEMENZ e RAJAGOPALAN, 1997; 2004; MYERS, 2006; HASENHUETTL, 2008b).

Vários autores sugerem o uso de surfactantes na formulação de filmes comestíveis biodegradáveis para auxiliar na incorporação dos ácidos graxos ou plastificantes hidrofóbicos na estrutura polimérica, como lecitina de soja e extrato de *Yucca Schidigera* (ANDREUCETTI *et al.*, 2011), Tween 40 (KOWALCZYK e BARANIAK, 2014), monoestearato de glicerol, Tween 60 e 80 (BRAVIN, PERESSINI e SENSIDONI, 2004).

#### 2.3.3.1 Lecitina de soja

A lecitina de soja é um surfactante anfótero, de origem natural e de grande utilização na indústria de alimentos, obtido por degomagem do óleo de soja bruto (O'BRIEN, 2009; WANG, 2002; HASENHUETTL, 2008b). É um fosfolipídio de origem vegetal, formado por uma mistura de triacilgliceróis, fosfolipídeos (fosfatidilcolina, fosfatidiletanolaminas e fosfatidilinositol) (FIGURA 5) e outros componentes em menores quantidades (GUNSTONE e HERSLÖF, 2000; SZUHAJ,

2005; MYERS, 2006). O grau de refinamento de lecitina pode conter qualquer um destes componentes em proporções variáveis, dependendo do tipo e do fracionamento utilizado (SZUHAJ, 2005). A composição química aproximada na lecitina de soja natural está descrita na TABELA 3.

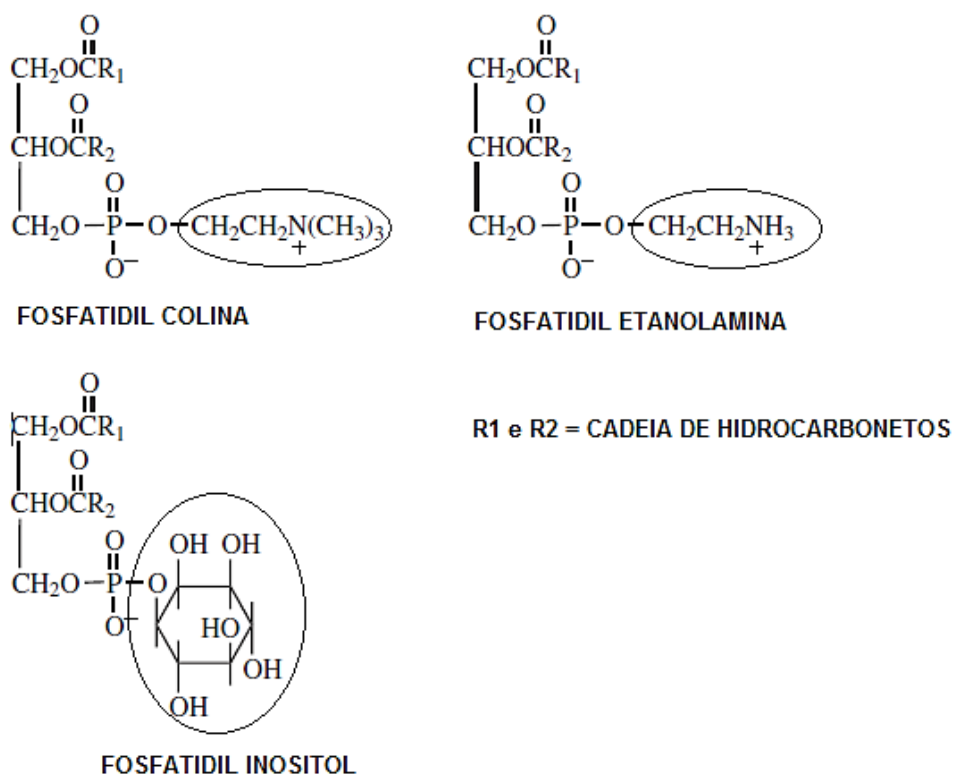


FIGURA 5 ESTRUTURA BÁSICA DOS PRINCIPAIS COMPONENTES DA LECITINA DE SOJA (SZUHAJ, 2005).

TABELA 3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA APROXIMADA DA LECITINA DE SOJA COMERCIAL NATURAL

Fração	%
Óleo de soja	35
Fosfatidil Colina	16
Fosfatil etanolamina	14
Fosfatil inositol	10
Fitoglicolípídeos e outros fosfatídios de menor composição	17
Carboidratos	7
Umidade	1

FONTE: SZUHAJ, 2005.

A natureza distinta dos componentes e o arranjo molecular destes na estrutura definem um produto solúvel em óleos minerais, ácidos graxos, solventes de hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos, parcialmente solúvel em álcool etílico (fração fosfatidil colina), quase insolúvel em acetona e água e com forte tendência para promover emulsões do tipo água/óleo. A fração fosfatidil colina e etanolamina podem assumir caráter base ou ácido ao mesmo tempo dependendo das condições do meio, enquanto o a fração inositol assume somente caráter aniônico (SZUHAJ, 2005). As propriedades físicas da lecitina de soja estão descritas na TABELA 4.

TABELA 4 PROPRIEDADES FÍSICAS DA LECITINA DE SOJA COMERCIAL

<b>Propriedades</b>	
Cor	Amarelo claro a marrom escuro
Balanço Hidrófilo-Liófilo (HLB)	2 - 12
pH	5 - 8
Solubilidade	
Componentes apolares	Solúvel
Alcoóis de baixo peso molecular	Parcialmente solúvel a solúvel
Glicerina	Parcialmente solúvel a solúvel
Água	Insolúvel a ligeiramente dispersível

FONTE: SZUHAJ, 2005.

Vários estudos demonstram atividade antioxidante das frações presentes na estrutura dos fosfolipídios. Em pesquisa desenvolvida por King, Boyde e Sheldon, 1992, os autores constataram que as três frações de fosfolipídios foram eficazes como agente antioxidante em óleo refinado de salmão, onde o efeito foi mais pronunciando na fração colina, seguido da fração etanolamina e inositol (KING, BOYDE e SHELDON, 1992). A atividade antioxidante também foi verificada quando lecitina foi utilizada como agente encapsulante de compostos bioativos (curcumina) (PAN, TIKEKAR e NITIN, 2013).

### 2.3.3.2 Surfactantes baseados em saponinas

Saponinas são biosurfactantes derivados de plantas e microorganismos. A estrutura destas moléculas contém uma parte hidrofóbica composta por grupos triterpênicos ou glicosídeos de esteróides, e uma parte hidrofílica caracterizada pela presença de cadeias de açúcares, como observado na FIGURA 6 (HOSTETTMANN e MARSTON, 1995; CHEEKE, 2000; HOGAN *et al.*, 2014).

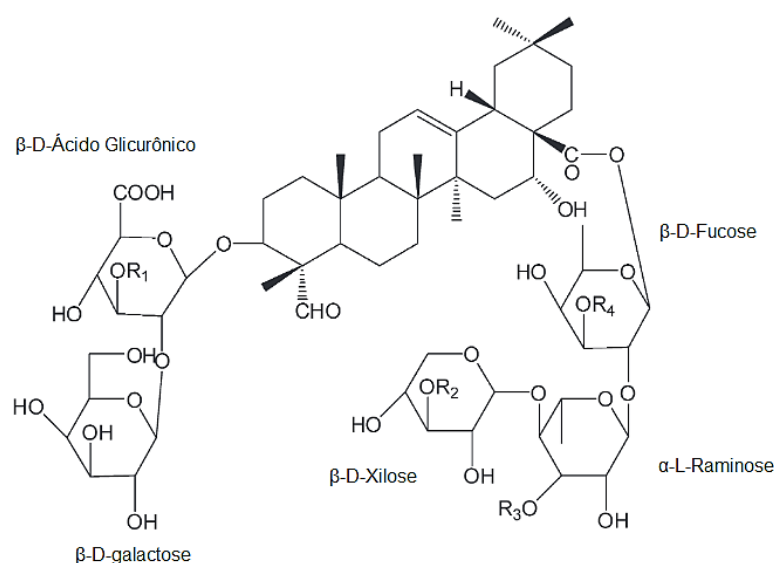


FIGURA 6 ESTRUTURA MOLECULAR DE QUILLAJA SAPONINAS. R<sub>1</sub> - R<sub>4</sub> REPRESENTAM GRUPOS DE AÇÚCARES IGUAIS OU DIFERENTES (FONTE: STANIMIROVA *et al.*, 2011).

As saponinas devido ao seu caráter anfífilico, possuem propriedades detergentes, emulsificantes e possibilitam a formação de espumas estáveis (HOSTETTMANN e MARSTON, 1995). As moléculas de saponina podem formar agregados (micelas) em solução aquosa acima da concentração micelar crítica, e a estrutura dessas micelas dependerá da planta de origem o qual a saponina foi extraída, temperatura do sistema, pH, concentração de componentes hidrofóbicos e de eletrólitos, entre outros (MITRA e DUNGA, 1997; MITRA e DUNGA, 2000; MITRA e DUNGA, 2001; STANIMIROVA *et al.*, 2011). Estudos apontaram que as micelas *Quillaja saponaria* podem solubilizar de forma mais eficiente moléculas hidrofóbicas de alto peso molecular (por exemplo, colesterol) do que outros surfactantes de hidrocarbonetos de cadeia linear como Tween 20 (MITRA e DUNGA, 2001).

As duas maiores fontes comerciais de saponinas são plantas encontradas no deserto: *Yucca shidigera* do México e *Quillaja saponaria* originária do Chile. Ambas

as fontes são excelentes agentes espumantes, e por esse motivo são utilizados em bebidas onde as espumas são desejáveis (CHEEKE, 2000).

a) *Yucca schidigera*

*Yucca schidigera* (YS) é uma planta da família *Agavaceae*, nativa das regiões áridas do sudoeste dos EUA e México (CHEEKE, 2000; SUCHARZEWSKA *et al.*, 2003; SANTACRUZ-REYES e CHIEN, 2012). É extraída dos troncos da planta, onde estes são macerados mecanicamente e secos para sua comercialização na forma de pó, ou submetido à prensa mecânica, seguida de evaporação para obtenção do extrato (CHEEKE, 2000). Seu uso na indústria de alimentos é permitido pelo órgão regulamentador FDA (Food and Drug Administration) (seção 172.510: “Natural flavoring substances and natural substances used in conjunction with flavors”) (FDA, 2014).

A YS é constituída por saponinas do tipo esteroidais, principalmente de sarsasapogenina e esmilagenina (KANEDA *et al.*, 1987; KOWALCZYK *et al.*, 2011), como ilustrado na FIGURA 7. Além da propriedade funcional de redução da tensão superficial derivada das saponinas, a YS possui também componentes fenólicos os quais conferem a essa planta propriedades antioxidantes (PIACENTE *et al.*, 2004).

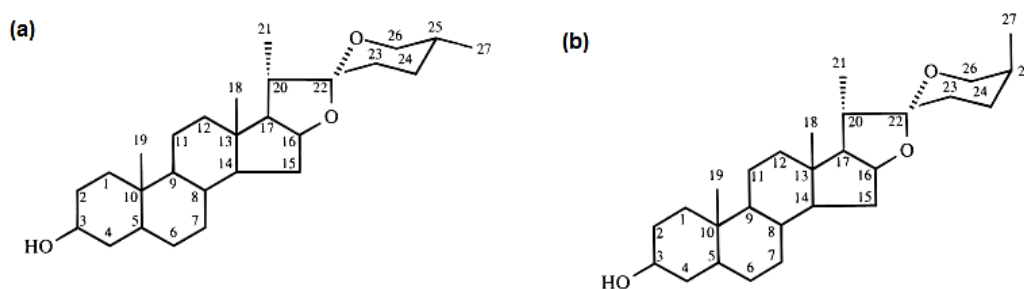


FIGURA 7 PRINCIPAIS SAPONINAS DO TIPO ESTEROIDAL PRESENTES NO EXTRATO DE YS: (A) ESMILAGENINA E (B) SARSASAPOGENINA (AGRAWAL, BUNSAWANSONG E MORRIS, 1997).

#### 2.3.4 Lipídios

Lipídios podem ser adicionados à formulação de filmes biodegradáveis com o objetivo de aumentar a hidrofobicidade e assim minimizar a migração de vapor de água dessas estruturas. Entretanto, a incorporação de lipídios na estrutura dos filmes pode levar ao aumento da opacidade e diminuição nas propriedades mecânicas dos filmes, dependendo da estrutura e da composição destes lipídios, como pode ser observado na TABELA 5. O efeito positivo resultante da incorporação dos lipídios nas matrizes poliméricas depende da natureza do lipídio utilizado (organização dos cristais e tamanho das cadeias dos ácidos graxos), da sua hidrofobicidade, do estado físico (líquido ou sólido), e das interações destes lipídios com os demais componentes da película (GALLO *et al.*, 2000; BRAVIN, PERESSINI e SENSIDONI, 2004; BERTAN *et al.*, 2005b).

Os componentes lipídicos comumente utilizados na preparação de filmes e coberturas incluem principalmente ácidos graxos e ceras (BERTAN *et al.*, 2005a; SAUCEDO-POMPA *et al.*, 2009; DE LA CABA *et al.*, 2012). Alguns óleos essenciais podem ser incorporados como agentes naturais antimicrobianos, fornecendo a esses filmes propriedades adicionais na estabilidade dos alimentos estocados (FERNÁNDEZ-PAN *et al.*, 2012; LEE, LEE, e SONG, 2015).



TABELA 5 ESTUDOS ENVOLVENDO A ADIÇÃO DE LIPÍDIOS EM MATRIZES PROTEICAS

Matriz	Lipídio	PVA* (%)	Propriedades mecânicas*	Ref.
Proteína globular de pistache/Glicerol	C16:0 / C18:0	Redução de 40 % (C16:0) e 43% (C18:0) (Gradiente de 97% UR)	Diminuição da RT e da flexibilidade	ZAHEDI, GHANBARZADEH e SEDAGHAT, 2010
Proteína isolada de soja/Glicerol	Cera de abelha	Redução de 23% (Gradiente de 54% UR)	Melhora na RT e suave diminuição da flexibilidade	CHAO <i>et al.</i> , 2010
Concentrado proteico de soro de leite	Óleo essencial de canela	Redução de 21% (Gradiente de 75% UR)	Diminuição da RT e ligeiro aumento da flexibilidade	BAHRAM <i>et al.</i> , 2014
Proteína de Quinoa/Chitosana	Óleo de girassol	Redução de 30% (Gradiente de 40% UR)	Redução da RT e da flexibilidade	VALENZUELA, ABUGOCH e TAPIA, 2013

\* Quando comparado os filmes sem a adição dos componentes lipídicos;  
PVA: Permeabilidade ao vapor de água; RT: Resistência à tração

### 2.3.4.1 Óleo de coco (OC)

Óleo de coco extra virgem é um óleo vegetal obtido a partir da polpa fresca e madura (copra) do coco (*Cocos nucifera* L.) por prensagem mecânica ou natural, com ou sem a aplicação de calor, seguido da quebra da emulsão para separação do óleo. O óleo de coco extra virgem não é submetido ao processo de refinamento, branqueamento e desodorização (APCC, 2015).

A fração saponificável do OC é composta predominantemente de ácidos graxos saturados, e dentre estes o principal é o ácido láurico (45 – 53%) (O'BRIEN, 2004; CODEX STAN, 1999; MARINA *et al*, 2009a; APCC, 2015). Na TABELA 6 está listada a composição dos ácidos graxos do óleo de coco extra virgem de acordo com as normas padrões vigentes.

TABELA 6 COMPOSIÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS DO OC EXTRA VIRGEM\*

Ácido Graxos	Codex Stan 201	APCC <sup>a</sup>
C6:0	ND – 0,7	0,40 – 0,60
C8:0	4,6 – 10,00	5,00 – 10,00
C10:0	5,0 – 8,00	4,50 – 8,00
<b>C12:0</b>	<b>45,1 – 53,2</b>	<b>43,00 – 53,00</b>
C14:0	16,8 – 21,0	16,00 – 21,00
C16:0	7,50 – 10,2	7,50 – 10,00
C18:0	2,0 – 4,0	2,00 – 4,00
C18:1	5,0 – 10,0	5,00 – 10,00
C18:2	1,0 – 2,50	1,00 – 2,50
C18:3	ND - 0,2	< 0,5
C20:0	ND – 0,2	-
C20:1	ND – 0,2	-

FONTE: CODEX STAN, 1999; APCC, 2015.

\* Determinação por cromatografia gás-líquido. Expresso como porcentagem de ácidos graxos.

APCC: Asian and Pacific Coconut Community.

Os óleos ou gorduras onde o ácido láurico é predominante apresentam características acentuadas de fusão. O OC, por exemplo, apresenta consistência dura e quebradiça a temperatura de 21,1°C, mas funde-se completamente abaixo da

temperatura corporal (O'BRIEN, 2004). A fração insaponificável do óleo de coco (aproximadamente 0,5%) é constituída principalmente por tocoferóis, esteróis, pigmentos e carboidratos. O aroma e o sabor do óleo de coco são devidos principalmente à presença de  $\delta$  – e  $\gamma$  – lactonas, presente em pequenos traços (CANAPI *et al.*, 2005).

O elevado teor de ácidos graxos saturados e os tocoferóis presentes na fração insaponificável do OC conferem a este óleo excelente estabilidade oxidativa, característica pouco comum entre os óleos de origem vegetal (O'BRIEN, 2004; CANAPI *et al.*, 2005). Outra característica importante do OC é a atividade antioxidante relatada por pesquisadores devido à presença de compostos fenólicos (DIA *et al.*, 2005; MARINA *et al.*, 2009b; BINSI, RAVISHANKAR e GOPAL, 2013).

O efeito da adição de OC extra nas propriedades físicas, mecânicas e barreira a gases e ao vapor de água em filmes de quitosana foram avaliados por Binsi, Ravishankar e Gopal, (2013). A adição de OC resultou na melhora da barreira a permeabilidade ao vapor d'água dos filmes, com redução máxima de 80,5% quando comparado ao controle. Segundo os autores, com a incorporação de OC na matriz, os grupos ativos e hidrofílicos da quitosana se tornam menos disponíveis para interações com a água, diminuindo o caráter hidrofílico dos filmes. Outro mecanismo proposto pelos autores pode ser correlacionado com a presença dos compostos fenólicos no OC (11,3 mg GAE/100 g de OC). A estrutura dos componentes fenólicos é caracterizada por um grupo hidroxil ligado ao anel aromático, o qual pode estabelecer interações, como ligações de hidrogênio, com os grupos reativos da quitosana, limitando assim a disponibilidade dos grupos contendo hidrogênio em se ligarem a água. A redução nas interações entre as cadeias de quitosana devido à inserção de OC na estrutura levou a formação de filmes mais flexíveis e menos resistentes. Assim, o OC pode ter atuado como lubrificante na rede polimérica, fornecendo as filmes maior flexibilidade.

## 2.4 FILMES EMULSIONADOS

Os lipídios podem ser incorporados na matriz proteica pela formação de filmes emulsionados ou multicamadas. Nos filmes emulsionados, o material lipídico é disperso uniformemente na matriz hidrofílica, com auxílio de surfactantes (BRAVIN, PERESSINI e SENSIDONI, 2004; ANDREUCCETTI *et al.*, 2011; KOWALCZYK e BARANIAK, 2014). Já em filmes multicamadas, uma camada de lipídio é depositada sobre outra camada de filme hidrofílico previamente formado (WELLER *et al.*, 1998; DEBEAUFORT *et al.*, 2000; KRISTO, BILIADERIS, e ZAMPRAKA, 2007).

Os filmes emulsionados têm recebido atenção da indústria de alimentos, uma vez que requerem apenas uma etapa de fabricação, ao contrário dos filmes laminados que necessitam de duas etapas ou mais (BRAVIN, PERESSINI e SENSIDONI, 2004). As propriedades de barreira dos filmes emulsionados são influenciadas pela natureza do surfactante, tamanho e dispersão das gotas de lipídio formadas na matriz hidrofílica (BRAVIN, PERESSINI e SENSIDONI, 2004; PENG, YIN, e YUNFEI, 2013; TONGNUANCHAN, BENJAKUL e PRODPRAN, 2014).

O efeito dos lipídios e dos emulsificantes nas propriedades de barreira ao vapor de água dos filmes emulsionados depende inicialmente da natureza e da concentração dos emulsificantes, como verificado por Bravin, Peressini e Sensidoni (2004). A solubilidade do surfactante no meio exerce impacto direto na estabilidade da emulsão formada. Os autores verificaram maior homogeneidade dos glóbulos lipídicos e maior eficiência a barreira ao vapor de água com a maior solubilidade do surfactante no solvente aquoso. A natureza do lipídio adicionado também pode afetar a estrutura dos filmes emulsionados formados. Neste mesmo estudo, os autores concluíram que a adição de lipídios sólidos, como a manteiga de cacau, promoveu a formação de zonas irregulares devido à cristalização da gordura em temperatura ambiente, permitindo uma maior permeação de água pela estrutura.

O tamanho das gotas de lipídios influencia diretamente na estabilidade das emulsões e consequentemente nas propriedades dos filmes. Isso porque, a formação de gotas grandes pode levar a coalescência e floculação das micelas lipídicas formadas. Tongnuanchan, Benjakul e Prodpran (2014) estudaram três tipos de surfactantes, Tween 20, Tween 80 e lecitina de soja para estabilizar emulsões contendo óleos essenciais em filmes de gelatina de peixe. Dentre os surfactantes

avaliados, a lecitina de soja foi o surfactante que forneceu maior estabilidade ao sistema, devido a melhor distribuição das gotas de óleos essenciais na matriz proteica, como pode ser visualizado na FIGURA 8. Quando os surfactantes do tipo Tween foram utilizados foram verificadas gotas colapsadas na superfície dos filmes, demonstrando a instabilidade das emulsões formadas. Os autores verificaram que o tipo de surfactante utilizado demonstrou grande influência na estrutura morfológica e molecular dos filmes compostos elaborados.

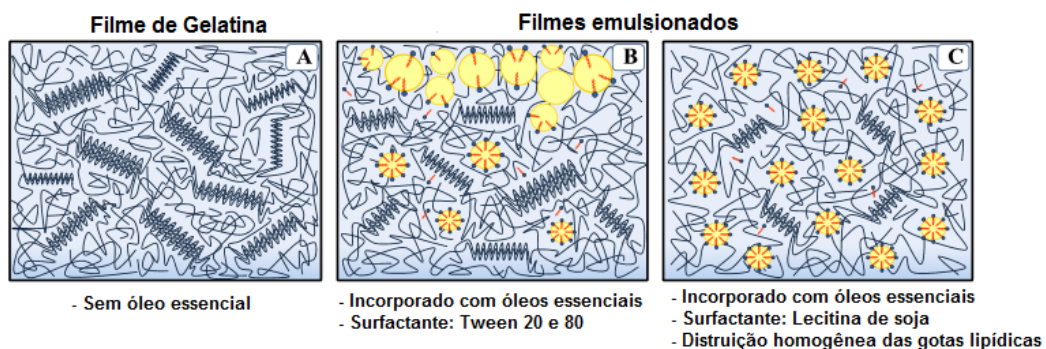


FIGURA 8 ESQUEMA SIMPLIFICADO DO EFEITO DOS SURFACTANTES NOS FILMES EMULSIONADOS DE GELATINA E ÓLEOS ESSENCIAIS (FONTE: TONGNUANCHAN, BENJAKUL E PRODPRAN, 2014).

ANDREUCCETTI (2010a) realizou um estudo envolvendo gelatina, plastificantes hidrofóbicos e surfactantes naturais (lecitina de soja e extrato de YS). Na primeira parte do trabalho (ANDREUCCETTI, CARVALHO e GROSSO, 2009), os autores investigaram a utilização de lecitina de soja, para emulsionar plastificantes hidrofóbicos derivados de ácido cítrico (citrato de acetiltributíla e citrato de tributíla) em filmes de gelatina. Quando os plastificantes foram adicionados a matriz sem a adição de lecitina, foram observados glóbulos de lipídios de diferentes tamanhos e a presença de duas fases distintas imiscíveis. Após a adição de lecitina, o sistema mostrou apenas uma fase, sem a presença de glóbulos grandes, indicando uma boa incorporação dos plastificantes apolares na estrutura. Na segunda fase do trabalho (ANDREUCCETTI *et al.*, 2010b), o objetivo foi avaliar a incorporação dos mesmos plastificantes hidrofóbicos, mas agora utilizando como surfactante extrato de YS. A adição de YS levou a diminuição do tamanho das gotas de lipídios na emulsão, o que resultou em uma emulsão com boa estabilidade e sem separação de fases independente da concentração de surfactante utilizado. O tempo de secagem requerido para os filmes utilizando YS foi menor (aproximadamente 8 horas)

comparado ao tempo requerido quando lecitina foi utilizada nas formulações (18 horas). Além disso, os filmes produzidos com extrato de YS apresentaram melhor barreira ao vapor de água. Por outro lado, os filmes contendo lecitina foram mais flexíveis, apresentaram menor solubilidade em água e menores valores de umidade. Assim, como verificado também por Bravin, Peressini e Sensidoni (2004), a solubilidade dos surfactantes em meio aquoso é um fator determinante na elaboração dos filmes, uma vez que a solução formadora é predominantemente polar. Com a melhor solubilização do surfactante é possível obter emulsões mais estáveis, com uma dispersão mais homogênea de lipídios na estrutura dos filmes, explicando a melhor barreira ao vapor de água dos filmes com YS. Por outro lado, os ácidos graxos presentes na estrutura da lecitina podem atuar como lubrificantes da cadeia e aumentar sua flexibilidade.

Ácidos graxos saturados são mais efetivos no controle de migração de umidade que os ácidos graxos insaturados. Fernández *et al.*, (2007) verificaram que ácidos graxos saturados (esteárico, C18:0) foram mais eficientes na redução da migração ao vapor d'água em filmes de proteína de soro de leite que ácidos graxos insaturados (ácido oléico e linoleico, C18:1 e C18:2). Isso porque, os ácidos graxos insaturados apresentam um maior grau de mobilidade devido às duplas ligações do que os ácidos graxos saturados, o que favorece a difusividade molecular da água na estrutura.

Dependendo das características do sistema, o surfactante pode ainda exercer impacto negativo na estrutura dos filmes emulsionados. A presença de grupos hidrofílicos nos surfactantes pode promover a sorção de água na estrutura dos filmes, o que pode facilitar a permeação de água pelo filme. No caso de surfactantes com grande volume molecular, como a lecitina de soja, se estes componentes não estiverem associados com as cadeias poliméricas, pode ocorrer aumento de espaços vazios na matriz levando a perda de eficiência das propriedades estruturais. A organização do lipídio na matriz polimérica a interação entre esses componentes são considerados fatores críticos nas propriedades finais de filmes compostos ou emulsionados (GONTARD *et al.*, 1994).

## 2.5 PROPRIEDADES E CARACTERÍSTICAS DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS

As propriedades das embalagens biodegradáveis produzidas a partir de macromoléculas, tais como proteínas e lipídios, dependem em grande parte da interação entre esses polímeros (CUQ *et al.*, 1995). As interações e a estrutura desenvolvida durante a formulação e a etapa de secagem dos filmes, refletem diretamente nas propriedades funcionais dos filmes, tais como, espessura e solubilidade em água, propriedades de barreira ao vapor d'água, propriedades mecânicas (tração e alongação na ruptura), propriedades térmicas e morfológicas. A seguir serão apresentadas as técnicas mais comumente utilizadas na caracterização de embalagens biodegradáveis.

### 2.5.1 Espessura

O controle da espessura dos filmes é requerido para uniformidade, repetibilidade das medidas e validação das comparações de propriedades entre variados tipos de filmes (GENNADIOS *et al.*, 1993). A adição de plastificantes com alta afinidade pela umidade do ambiente, como por exemplo, o glicerol, pode ocasionar uma maior retenção de água na matriz e consequente aumento na espessura final dos mesmos (SANTACRUZ *et al.*, 2015).

A adição de substâncias hidrofóbicas também gera um aumento na espessura da matriz (BERTAN *et al.*, 2005b) devido às interações e reorganização das moléculas durante a formação e a etapa de secagem dos filmes (BINSI *et al.*, 2013).

### 2.5.2 Opacidade

A opacidade é um indicativo de quantidade de luz que pode atravessar a superfície do material. Desta forma, quanto maior a opacidade de um filme, menor é a quantidade de luz que entrará em contato com o alimento embalado (MARCONDES e DARBY, 2009). A opacidade é desejável, por exemplo, quando a luz pode acelerar reações de deterioração em produtos alimentares ou indesejável onde a aparência do produto embalado deve ser ressaltada.

A transparência e a opacidade do polímero estão relacionadas com a composição da matriz, bem como a organização e ao rearranjo dos componentes na matriz (VILLALOBOS *et al.*, 2005). A incorporação de lipídios tem impacto direto na aparência do filme, tornando-os mais opacos (TONGNUANCHAN, BENJAKUL e PRODPRAN, 2014; CERQUEIRA *et al.*, 2012). Wang *et al.*, (2014) observaram que a opacidade de filmes de PIS aumentaram significativamente com o aumento da concentração de ácido oleico e esteárico na matriz, e atribuiu esse efeito a dispersão da luz pelas gotas de emulsão e a sua distribuição contínua na rede do polímero. Zahedi *et al.*, (2010) atribuiu o aumento da opacidade em filmes compostos de proteína de pistache e lipídios (ácido palmítico e esteárico) ao estado sólido do ácido graxo em temperatura ambiente. Fernández *et al.*, (2007) concluiu que filmes de proteína de soro leite produzidos com ácidos graxos saturados (ácido esteárico) foram mais opacos do que os filmes produzidos com ácidos insaturados (ácido oleico e linolênico), tendo atribuído esse efeito a diferença na temperatura de fusão entre os ácidos e a formação de emulsões menos estáveis com a utilização de ácido esteárico.

Segundo estudo realizado por CHO *et al.*, (2007), o pH pode ainda influenciar na opacidade dos filmes. Em pH neutros ou fracamente alcalinos, a presença de partículas insolúveis leva a diminuição da transparência dos filmes (CHO *et al.*, 2007).

### 2.5.3 Solubilidade em água

A solubilidade em água de filmes biodegradáveis é uma propriedade física utilizada para avaliar a resistência destas embalagens em meio aquoso, servindo como indicativo da hidrofobicidade dos filmes (KIM e USTONOL, 2001). A solubilidade é um parâmetro importante na aplicação de filmes biodegradáveis em alimentos, e dependerá da natureza e composição do alimento a ser estocado. Alimentos com alta atividade de água requerem embalagens com baixa solubilidade em meio aquoso, a fim de manter a integridade da embalagem e consequentemente a qualidade do produto armazenado (PÉREZ-GAGO, NADAUD e KROCHTA, 1999). Por outro lado, filmes biodegradáveis com alta solubilidade podem ser utilizados



para armazenar porções individuais de alimentos que serão dissolvidos em água quente ou durante o seu preparo (GONTARD, GUILBERT and CUQ, 1992).

A solubilidade de filmes proteicos depende do tipo de proteína, do processo de formação, das interações moleculares na cadeia e da estrutura desenvolvida após a secagem do solvente. Em estudo desenvolvido por Pérez-Gago, Nadaud e Krochta (1999), os autores verificaram que a solubilidade dos filmes de proteína de soro de leite foi fortemente influenciada pela desnaturação térmica aplicada no processo de elaboração (90 °C por 30 min). Filmes submetidos à desnaturação mantiveram sua integridade e apresentaram baixa solubilidade, enquanto filmes não submetidos à desnaturação desintegraram rapidamente em contato com a água. A desnaturação da proteína leva a perda da estrutura nativa tridimensional, permitindo a formação de ligações covalentes intermoleculares com os grupos sulfídricos que antes da desnaturação se encontravam impedidos estericamente no interior da estrutura.

A incorporação de lipídios pode levar a redução da solubilidade de filmes compostos devido ao aumento da hidrofobicidade da matriz (KIM e USTONOL, 2001). Por outro lado, a adição de ácidos graxos acima de determinada concentração (GONTARD, 1994, BERTAN *et al.*, 2005a) pode levar a desestabilização da estrutura, devido à redução das forças intermoleculares entre as cadeias de proteínas, resultando em aumento da solubilidade dos filmes (GONTARD, 1994).

#### 2.5.4 Permeabilidade ao vapor de água e ao oxigênio

A permeação de vapor de água e de gases nas estruturas poliméricas precisa ser adequada para prevenir e manter a qualidade sensorial, nutricional e a estabilidade física dos alimentos estocados. A migração de vapor de água pela embalagem pode aumentar a umidade dos alimentos, propiciando o crescimento de microrganismos, ou permitir a permeação de vapor de água para fora da embalagem, levando a desidratação do alimento (YAM, 2009b).

A redução na qualidade dos alimentos armazenados pode também ser resultado da oxidação de componentes aromáticos (MILLER e KROCHTA, 1997) ou

a reações de degradação, como rancidez de óleos e gorduras, escurecimento enzimático e crescimento de microrganismos. Essas reações são aceleradas pela difusão do oxigênio na estrutura durante a estocagem dos alimentos (GONTARD *et al.*, 1996).

A permeabilidade de filmes depende do movimento da molécula de permeante (água ou gases) pela estrutura do filme (difusão), o qual está relacionado com a afinidade destas pelos constituintes do filme e da dissolução destas moléculas na estrutura (solubilidade) (PAVLATH e ORTS, 2009; YAM, 2009b; MILLER e KROCHTA, 1997). Assim, a incorporação de componentes hidrofóbicos com baixa afinidade pela água pode diminuir essa taxa de difusão (YANG e PAULSON, 2000; ZAHEDI, GHANBARZADEH e SEDAGHAT, 2010; KOWALCZYK e BARANIAK, 2014).

A permeação de água em filmes compostos depende vários outros fatores, como: (i) a estrutura química dos componentes lipídicos adicionados (rearranjo e tamanho das cadeias de ácidos graxos), (ii) o grau de organização destes componentes, (iii) a orientação e do alinhamento das cadeias de proteínas, (iv) o espaço livre por qual a molécula de água pode permear (GALLO *et al.*, 2000; BERTAN *et al.*, 2005b; BRAVIN, PERESSINI e SENSIDONI, 2004) e (v) a natureza do surfactante utilizado (PENG, YIN e YUNFEI 2013; ANDREUCCETTI *et al.*, 2011; BRAVIN, PERESSINI e SENSIDONI, 2004).

A permeação de vapor de água e gases pode ainda ser acelerada caso a embalagem sofra algum dano mecânico durante o processamento, transporte e armazenagem. Esses danos mecânicos podem provocar transferência acelerada de oxigênio, vapor de água, aroma, além de permitir a penetração de microrganismos, o que pode reduzir significativamente o período de vida útil dos produtos (YAM, 2009a).

#### 2.5.5 Propriedades Mecânicas

As propriedades mecânicas permitem avaliar a capacidade da embalagem em manter sua integridade durante a estocagem e assim proteger o alimento embalado. Os filmes devem ser resistentes à ruptura, com o objetivo de reforçar a

estrutura dos alimentos embalados e flexíveis para se adaptarem as eventuais deformações dos alimentos sem que ocorra a ruptura (GUILBERT, GONTARD e GORRIS, 1996).

Elongação (%) e Resistência à Tração (RT, MPa) são as principais propriedades mecânicas utilizadas para mensurar as propriedades mecânicas dos filmes biodegradáveis. A elongação é a habilidade do filme em se estender, expresso em porcentagem, antes da quebra sob tensão. Resistência a tração (RT) é a capacidade do material em resistir à ruptura sob tensão de tração (GONTARD et al., 1994; CANEIRO-DA-CUNHA et al., 2009).

A estrutura do polímero, como geometria molecular, peso molecular e posição dos grupos capazes de interagir com os demais constituintes, determina principalmente as propriedades mecânicas dos filmes. Essas propriedades dependem ainda da coesão da matriz, ou seja, da habilidade dos componentes da solução em formar ligações fortes e/ou numerosas com as cadeias poliméricas (coesão) (GUILBERT, GONTARD e GORRIS, 1996; (CALLEGARIN *et al.*, 1997).

#### 2.5.6 Propriedades físicas, mecânica e de barreira de filmes biodegradáveis

As propriedades dos filmes simples ou compostos dependem principalmente da composição da matriz. Na TABELA 7 estão listadas as principais propriedades para alguns filmes produzidos a partir de proteínas, polissacarídeos, filmes compostos e alguns filmes sintéticos comumente utilizados como embalagens em alimentos.

TABELA 7 PROPRIEDADES FÍSICAS, MECÂNICAS E PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA DE FILMES BIODEGRADÁVEIS E SINTÉTICOS

Matriz	PVA	Elo (%)	RT	PO	Referência
PIS:glicerol:sorbitol	$9,4 \times 10^{-10}$ (Gradiente 50% UR)	178,6	2,5	$6,0 \times 10^{-19}$	CHO, LEE e RHEE, 2010
Gelatina:glicerol	$(6,2 - 9,6) \times 10^{-11}$	5,3 a 7,2	81,0 a 93,5	--	BERTAN, 2008
Glúten:glicerol	$(0,63 - 1,5) \times 10^{-10}$ (Gradiente 75% UR)	131,8 a 188,5	0,45 a 1,35	--	
Quitosana	$4,7 \times 10^{-12}$	10,2	81,7	$4,5 \times 10^{-20}$	BINSI, RAVISHANKAR E GOPAL, 2013
Quitosana:OC	$9,3 \times 10^{-13}$ (Gradiente 90% UR)	14,3 a 39,7	57,1 a 76,7	$(4,6 \text{ a } 6,4) \times 10^{-20}$	
Carboximetil celulose:sorbitol	$4,5 \times 10^{-10}$ (Gradiente 50% UR)	23,0	19,0	--	KOWALCZYK e BARANIAK, 2014
PEBD	$0,01 \times 10^{-12}$	627	8,34	$8,0 \times 10^{-17}$	ARVANITOYANNIS <i>et al.</i> , 1998
N/PLBCM (sachês para tempero)	$< 1,00 \times 10^{-12}$ (Gradiente 50% UR)	179,2	31,6	$3,5 \times 10^{-18}$	CHO, LEE e RHEE, 2010

*PVA* (g /m s Pa) = Permeabilidade ao vapor d'água; *RT*(MPa) = Resistência a tração; *Elo* (%) = Elongação na ruptura; *PO* (m<sup>3</sup>m / m<sup>2</sup> s Pa) = Permeabilidade ao oxigênio (m<sup>3</sup> m/m<sup>2</sup> s Pa);

PEBD: Polietileno de baixa densidade

N/PLBCM: Nylon/polietileno linear de baixa densidade catalisado por metaloceno

De um modo geral, entre filmes biodegradáveis, filmes de PIS apresentam como principal vantagem boa flexibilidade. Comparado a filmes sintéticos comumente utilizados em alimentos (PEBD e N/PLBCM), os filmes de PIS apresentam barreira superior à permeação de gases, como o oxigênio. Por outro lado, filmes de PIS ainda apresentam limitações com relação a sua resistência mecânica e a pobre barreira à permeação de vapor de água, comparado a filmes de gelatina, quitosana e sintéticos listados.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a evolução das pesquisas ao longo dos anos, os filmes elaborados a partir de biopolímeros aparecem como alternativa promissora para substituição parcial ou integral das embalagens convencionais. Entretanto, às limitações dessas embalagens biodegradáveis, como baixa barreira à umidade ou baixa resistência mecânica, exigem estudos mais avançados para aprimorar suas propriedades.

Neste sentido, os filmes compostos de proteínas e lipídios tem sido o foco de trabalhos recentes, devido à possibilidade de se obter filmes com características hidrofóbicas e hidrofílicas na mesma estrutura. Para uma melhor incorporação dos lipídios na matriz proteica, os surfactantes podem ser aplicados nas formulações, a fim de produzir emulsões estáveis mesmo após o processo de secagem dos filmes.

Os componentes empregados na matriz foram escolhidos pela disponibilidade, facilidade de obtenção, por possuírem características adequadas para utilização em embalagens e por estes serem reconhecidos como inócuos a saúde. A proteína isolada de soja é produzida de forma expressiva no Brasil e no mundo, além de apresentar propriedades que possibilitam a formação de filmes. O óleo de coco foi escolhido devido a sua boa estabilidade oxidativa, característica essa relevante, uma vez que lipídios são susceptíveis a degradações pela luz e oxigênio. A lecitina de soja é um surfactante de grande utilização na indústria de alimentos, além de ser um subproduto da soja. Já o extrato de *Yucca schidigera* foi escolhido por ser um surfactante baseado em saponinas, já utilizado na indústria de bebidas, com boa solubilidade em água e listado pela literatura por sua boa capacidade de formar agregados com moléculas lipídicas de alto peso molecular.

Assim, dessa combinação são esperadas melhorias nas propriedades dos filmes elaborados. As formulações e as metodologias desenvolvidas deste trabalho visam produzir filmes que apresentem potencial de aplicação na indústria de alimentos ou que sirvam como base de estudo para área de estudo em potencial.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAL

Proteína isolada de soja (PIS, > 90% proteína, Bremil Alimentos, Brasil) foi utilizada como matriz contínua do filme. Glicerol anidro (Pureza  $\geq$  99.5%, Panreac, Espanha) foi utilizado como plastificante. Água destilada e etanol (96%, Panreac, Espanha) foram utilizados como solvente. Óleo de coco extra virgem (OC, Copra Indústria Alimentícia, Maceió, Brasil) foi incorporado nos filmes como componente hidrofóbico.

Lecitina de soja (LS) (Imcopa Exportação e Indústria de Óleo S.A, Araucária, Brasil) e extrato líquido extraído de *Yucca schidigera* (YS) (Beraca Sabará Químicos e Ingredientes, ~ 10% de saponinas do tipo esteroideal) foram utilizados como surfactante. Na TABELA 8 e 9 estão descritas as especificações técnicas dos surfactantes, LS e extrato de YS, respectivamente, conforme informações cedidas pelos fornecedores.

TABELA 8 ESPECIFICAÇÕES TÉCNICAS DA LECITINA DE SOJA COMERCIAL

Propriedades*	<i>Lecitina de soja</i>
Aparência	Fluida e límpida
Sabor	Característico do cereal de origem
Cor	Âmbar
Umidade	0,57%
Insolúveis em acetona	62,50%
Insolúveis em hexano	0,03%
Índice de acidez	26,64 mg KOH/g
Acidez	13,39%
Índice de peróxido	0,92 meq O <sub>2</sub> /kg
Viscosidade a (25 °C)	90 poise
Ferro	44 ppm

\* Lote de produção: A070813LS.

Informações cedidas pelo Fornecedor (Imcopa Exportação e Indústria de Óleo S.A).

TABELA 9 ESPECIFICAÇÕES TÉCNICAS DO EXTRATO DE *YUCCA SCHIDIGERA*

<b>Propriedades*</b>	<b><i>Yucca schidigera</i></b>
Aparência (25 °C)	Líquido
Sabor	Amargo Doce
Cor	Castanho
pH	Levemente ácido para solução 10%
Solubilidade	Solúvel em água
Densidade (kg/m <sup>3</sup> )	1,21 a 1,24

\* Lote de produção: Y-5683

Informações cedidas pelo fornecedor (Beraca Sabará Químicos e Ingredientes LTDA).

### 3.2 ENSAIOS PRELIMINARES

Ensaio preliminares foram realizados com o objetivo de produzir filmes homogêneos, manuseáveis e flexíveis. O efeito dos parâmetros de processo, pH e etapa adicional de homogeneização de alta rotação da solução formadora, foram investigados apenas no filme controle, ou seja, naqueles elaborados apenas partir de PIS, glicerol e solventes (etanol + água). Após a definição dos parâmetros operacionais foram determinados os limites inferiores e superiores de concentração das matérias primas (PIS, LS, glicerol e OC) (TABELA 10).

TABELA 10 PARÂMETROS UTILIZADOS PARA DETERMINAÇÃO DAS CONDIÇÕES OPERACIONAIS DE ELABORAÇÃO DOS FILMES

<b>Concentração das matérias primas</b>	
<b>Componente</b>	<b>Concentração</b>
PIS (% m/m)	5,0 a 9,0% (m/m)
Glicerol (Gli:PIS)	0,5:10, 1,5:10, 2,5:10 e 3,5:10
Óleo de coco (OC:PIS)	0,1:10, 0,4:10, 0,7:10 e 1:10
<b>Condições Operacionais</b>	
pH	Condição 1: pH 6,5
	Condição 2: pH 9,0
Homogeneização	Condição 1: Ausente
	Condição 2: 13500 rpm / 1 min seguido por 20500 rpm / 2min**
Temperatura	Aquecimento da solução formadora até 70 °C

\*\* De acordo com metodologia proposta por Rezvani *et al.*, (2013)



### 3.3 ELABORAÇÃO DOS FILMES EMULSIONADOS

Os filmes foram elaborados pelo método “*casting*”. Essa técnica é usualmente utilizada em escala laboratorial, mas é necessária para conhecer o comportamento e as propriedades dos filmes biodegradáveis. Após testes preliminares a concentração de PIS foi fixada em 6,5% (m/m solução formadora de filme) e de glicerol em 2,5:10 (Gli:SPI, m/m). Água destilada e álcool etílico (20 % m/m solução formadora de filme) foram utilizados como solvente. O álcool foi aplicado à formulação dos filmes com o objetivo de facilitar a secagem dos filmes e solubilizar a lecitina de soja quando esta foi utilizada como surfactante.

Os surfactantes, LS e extrato de YS foram utilizados com agentes emulsificantes do OC. Em virtude do caráter hidrofílico da solução formadora (água + etanol, glicerol e proteína), optou-se por trabalhar com dois surfactantes de diferentes graus de hidrofobicidade: saponina proveniente do extrato de *Yucca shidigera* (YS) (solúvel em água) e lecitina de soja (LS) (surfactante do tipo lipofílico). Lecitina de soja foi adicionada a matriz nas proporções de 1:10, 2:10 e 3:10 (LS:Gli), segundo estudo realizado por Andreuccetti, Carvalho e Grosso (2009). Concentrações maiores de LS não foram utilizadas devido à dificuldade de solubilização da lecitina e ao aumento de bolhas na solução formadora. A baixa solubilidade da lecitina de soja em água e sua alta viscosidade dificultou sua dissolução na solução formadora e levou a problemas de manipulação devido à aderência nos aparatos de processamento. As proporções aplicadas foram iguais para ambos os surfactantes para fins de comparação.

A TABELA 11 mostra as diferentes formulações, variando a concentração de OC e dos surfactantes. Devido à natureza dos surfactantes, LC (lipofílico) e YS (hidrofílico), foi necessário o desenvolvimento de duas metodologias para a elaboração dos filmes emulsionados. As metodologias para produção dos filmes estão descritas nos itens 3.3.1 e 3.3.2, para LS e extrato de YS, respectivamente.

TABELA 11 FORMULAÇÃO DOS FILMES PRODUZIDOS A PARTIR DE PIS, GLICEROL, OC E SURFACTANTES E VOLUME DE SOLUÇÃO FORMADORA (SFF) UTILIZADO EM CADA FORMULAÇÃO.

Formulação *	Surfactante:Gli(m:m)**	OC:PIS (m:m)	SFF (mL)
A	3:10	0,7:10	20,0
B	3:10	0,4:10	20,4
C	3:10	0,1:10	20,9
D	2:10	0,7:10	20,3
E	2:10	0,4:10	20,8
F	2:10	0,1:10	21,3
G	1:10	0,7:10	20,7
H	1:10	0,4:10	21,2
I	1:10	0,1:10	21,7
Controle	0:10	0:10	22,3

\* Mesma formulação variando apenas no tipo de surfactante utilizado.

\*\* Surfactantes avaliados: Lecitina de soja e extrato de *Yucca Schidigera*

### 3.3.1 Elaboração de filme emulsionado utilizando LS como surfactante

A solução formadora de filme (SFF) foi obtida pela dissolução de PIS em água destilada a  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ . O pH da SFF foi ajustado com NaOH (1 ou 5N) ou com HCl (1 ou 5N) e a solução foi agitada em agitador magnético (Nova Ética, modelo 114) por 60 minutos (Solução 1). Paralelamente, LS foi solubilizada em álcool etílico por agitação magnética durante 90 minutos a  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Solução 2). Posteriormente, a solução alcoólica de LS (Solução 2), o glicerol e o OC foram adicionados a solução aquosa de PIS (Solução 1), onde esta foi aquecida em banho termostático (Ethik Technology) até atingir a temperatura de  $70 \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$  em agitação mecânica de 100 rpm. A SFF foi então homogeneizada (Polytron, PT 3100D) inicialmente a 13500 rpm/1min seguido por 20500 rpm/2min, de acordo com metodologia descrita por Rezvani *et al.*, (2013).

Volumes pré-determinados de SFF (TABELA 11) foram vertidos em placas de acrílico (14 cm x 14 cm) e secos a temperatura ambiente ( $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) por 24 horas. Durante a secagem dos filmes, as placas de acrílico foram mantidas sobre uma

mesa niveladora com pés ajustáveis, a fim de minimizar irregularidades na espessura dos filmes. Depois de secos, os filmes puderam ser facilmente removidos das placas sem o uso de lubrificantes ou qualquer esforço adicional.

Antes das análises de caracterização, os filmes obtidos foram acondicionados em dessecador a 25 °C e  $57 \pm 3$  % UR (solução saturada de  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ), por pelo menos 7 dias antes das análises, como descrito por outros autores (GALUS *et al.*, 2013; ANDREUCCETTI, CARVALHO e GROSSO, 2009). O fluxograma de elaboração dos filmes emulsionados produzidos com LS está descrito na FIGURA 9.

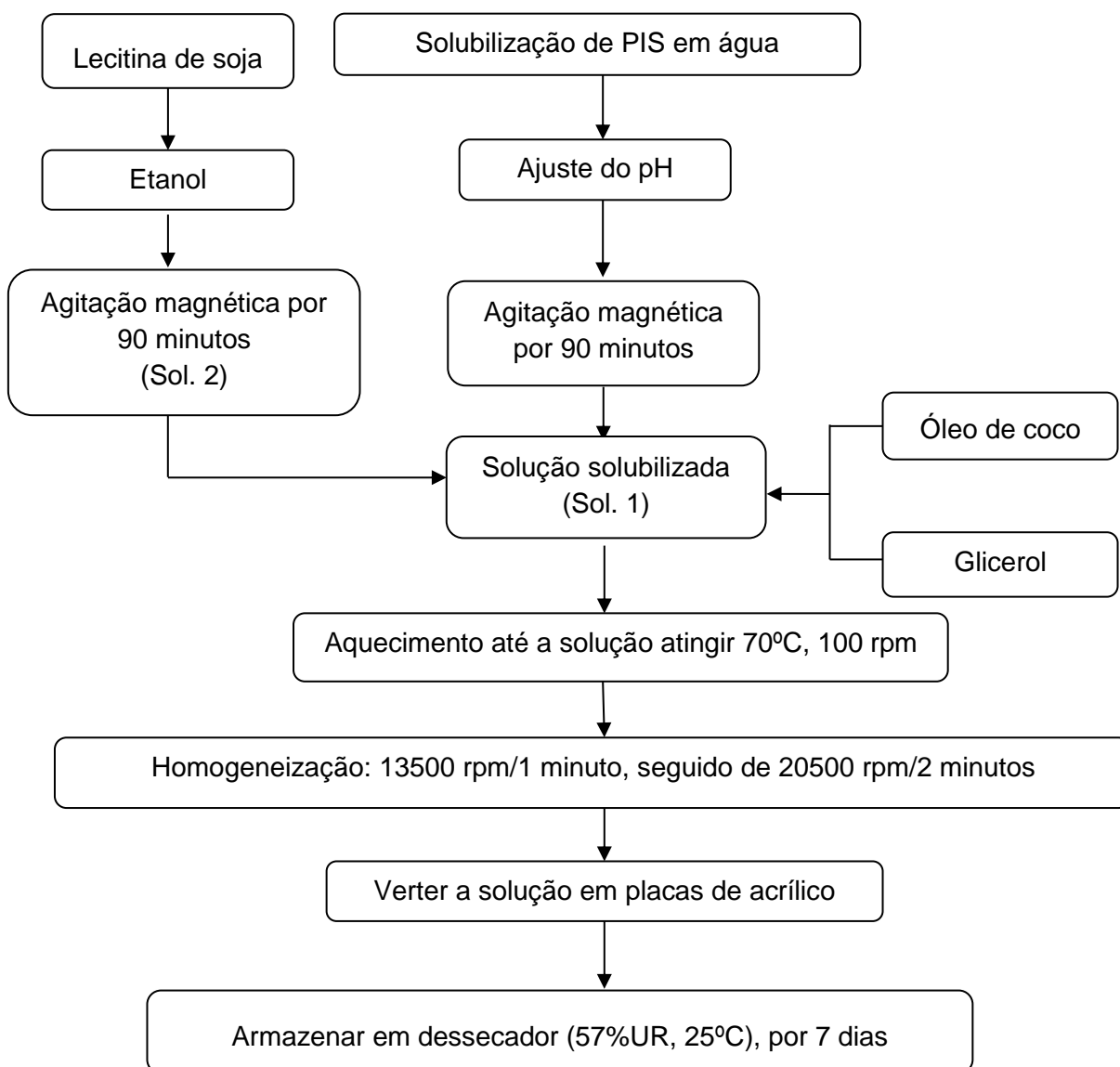


FIGURA 9 FLUXOGRAMA DE METODOLOGIA DE ELABORAÇÃO DOS FILMES EMULSIONADOS PRODUZIDOS A PARTIR DE PIS, GLICEROL, LS E OC.

### 3.3.2 Elaboração de filme emulsionado utilizando extrato de YS como surfactante

A SFF foi obtida pela solubilização de PIS em água destilada ( $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), seguido do ajuste do pH com NaOH (1 ou 5N) ou com HCl (1 ou 5N) e mantida em agitação magnética por 60 minutos (Solução 1). Extrato de YS foi utilizado como surfactante, e para isso, foi dissolvido paralelamente em água destilada a temperatura ambiente (Solução 2). O surfactante solubilizado em água (Solução 2), o álcool etílico, glicerol e OC foram misturados por de meio agitadores magnéticos na solução de PIS hidratada (Solução 1). As etapas seguintes de homogeneização, secagem e acondicionamento foram realizados da mesma forma do item 3.3.1. O fluxograma de elaboração dos filmes emulsionados produzidos com YS está descrito na FIGURA 10.

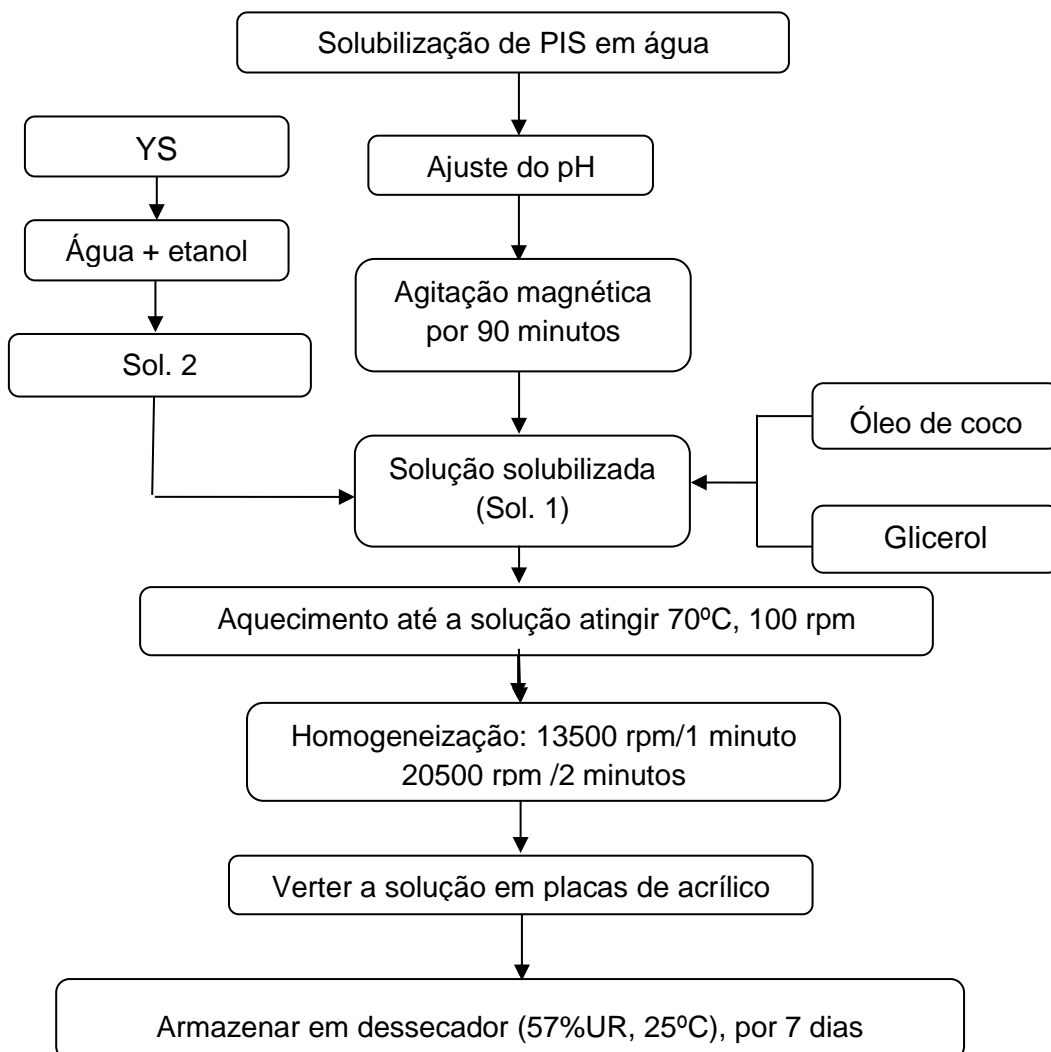


FIGURA 10 FLUXOGRAMA DE METODOLOGIA DE ELABORAÇÃO DOS FILMES EMULSIONADOS PRODUZIDOS A PARTIR DE PIS, GLICEROL, YSE OC.

### 3.4 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

O filme controle e os filmes emulsionados foram caracterizados quanto ao seu aspecto visual, espessura, cor e opacidade, permeabilidade ao vapor de água, solubilidade em água, propriedades mecânicas (resistência à tração e alongação na ruptura), características morfológicas e estruturais (microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia infravermelho) e quanto sua estabilidade térmica (análise termogravimétrica).

#### 3.4.1 Aspecto visual

Análises visuais e táteis foram realizadas com o objetivo de utilizar apenas filmes homogêneos, com coloração uniforme, flexíveis, manuseáveis, maleáveis, facilmente removidos do suporte, isento de partículas insolúveis e sem presença de exsudação dos componentes ou separação visível de fases.

#### 3.4.2 Espessura

A espessura dos filmes foi determinada utilizando micrômetro digital (resolução de 0,001 mm) (Mitutoyo, Japão). As medidas foram realizadas em corpos de prova sem irregularidades, a pelo menos 6 mm da borda. A espessura foi considerada como a média aritmética de 10 repetições para o controle geral da espessura, cinco posições para análise de barreira ao vapor d'água e três posições para análise de opacidade e propriedades mecânicas dos filmes.

#### 3.4.3 Opacidade

A opacidade foi realizada por método espectrofotométrico, segundo Gontard *et al.*, (1992) e Zahedi, Ghanbarzadeh e Sedaghat, (2010). O espectro de cada corpo de prova (1 x 4 cm) foi determinado utilizando um espectrofotômetro UV-VIS (Shimadzu, UV-1800, Japão). A área abaixo da curva de absorbância entre 360 a 800 nm é dado como a opacidade dos filmes, expresso em unidades de absorbância (AU x nm/ $\mu$ m).

#### 3.4.4 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi determinada gravimetricamente de acordo com o método modificado E96/96M-13 (ASTM, 2013), designado de “*Método de ensaio padrão para a transmissão de vapor d’água em materiais*”. Para esta análise foram utilizadas células circulares de permeação feitas de alumínio (0,06m x 0,035 m, diâmetro interno x profundidade), com uma área de exposição dos filmes de 0,0028 m<sup>2</sup>. As células foram preenchidas com cloreto de cálcio anidro e amostras de filme foram colocadas na abertura das células de teste. O conjunto final foi selado com parafina e acondicionado em dessecador contendo solução saturada de NaCl (25 °C, 75 ± 5 % UR). O ganho de peso das células foi monitorado a cada 24 horas por 7 dias. A análise foi realizada em triplicata e a PVA foi calculada pela Equação 1.

$$PVA = \frac{G x}{t A \Delta P} = \frac{G x}{t A S(R_1 - R_2)} \quad (1)$$

onde,  $G/t$  é a inclinação da reta ( $g s^{-1}$ ),  $A$  é a área de permeação filme (m<sup>2</sup>),  $x$  é a média aritmética da espessura de cinco medidas na área exposta do filme (m),  $\Delta P$  é a diferença de pressão de vapor (Pa),  $S$  é a pressão de vapor saturado na temperatura de teste (Pa),  $R_1$  é a umidade relativa do ambiente contendo solução saturada de NaCl (75% UR) expresso em fração e  $R_2$  é a umidade relativa do ambiente contendo o cloreto de cálcio (0% UR) expresso em fração.

#### 3.4.5 Solubilidade em água (SOL)

A solubilidade em água foi calculada de acordo com a metodologia de Gontard *et al.*, (1994). Discos de filme com 2 cm de diâmetro foram secos em estufa a 105°C por 24 horas e pesados. Os discos secos foram então imersos em 50 mL de água destilada, e mantidos em agitação (150 rpm) por 24 horas, a 25 °C (Incubadora Tecnal, modelo TE-421). Após este período, as amostras solubilizadas foram submetidas novamente a secagem em estufa a 105 °C por 24 horas, para obtenção da massa final seca. A análise foi realizada em triplicata. A solubilidade em água é expressa pela Equação 2.

$$SOL (\%) = \frac{(M_i - M_f) * 100}{M_i} \quad (2)$$

Sendo,

$SOL$ : é a massa solubilizada em função da massa seca inicial (%);

$M_i$ : é a massa seca inicial do disco de filme antes da solubilização (g);

$M_f$ : é a massa seca final do disco após solubilização.

### 3.4.6 Propriedades Mecânicas

A e alongação na ruptura (ELO, %) e resistência a tração (RT, MPa) dos filmes foram determinadas em texturômetro Brookfield CT3 (Brookfield Engenharia, USA), utilizando a probe TA-DGA (Conjunto aberto duplo, Brookfield) segundo o método padrão D882-12 (ASTM, 2012). Para os testes foram utilizados corpos de prova retangulares de 60 mm de altura x 25 mm de largura. A separação inicial das garras e a velocidade da probe foram de 20 mm e 1 mm s<sup>-1</sup>, respectivamente. Para cada tipo de filme foram realizados 10 repetições. A ELO% calculada usando a Equação 3 e RT pela Equação 4.

$$ELO (\%) = 100 \times \frac{(d_{ruptura} - d_{inicial})}{d_{inicial}} \quad (3)$$

$$RT = \frac{F_m}{A} \quad (4)$$

Onde

$ELO$ : é a alongação dos filmes (%);

$d_{ruptura}$ : é a distância de separação no momento de ruptura da amostra (mm), que corresponde à diferença entre a distância de separação no momento da ruptura e a distância inicial (20 mm);

$d_{inicial}$ : distância inicial de separação (20 mm).

$RT$ : é a resistência a tração (MPa);

$F_m$ : é a força máxima no momento de ruptura do filme (N);

$A$ : é a área da seção transversal do filme (m<sup>2</sup>);

### 3.4.7 Análise Termogravimétrica (TGA)

A estabilidade térmica e a degradação dos filmes foram analisadas por análise termogravimétrica (TGA, PerkinElmer, modelo 4000, USA). Amostras pesando aproximadamente 10 – 15 mg foram aquecidas de 25 a 600 °C a uma taxa de 10 °C min<sup>-1</sup>. Nitrogênio foi utilizado como gás de purga (20 mL min<sup>-1</sup>) para evitar reações termo-oxidativas. As curvas de TGA e DTG (derivada termogravimétrica) foram utilizadas na interpretação dos dados.

### 3.4.8 Propriedades morfológicas

#### 3.4.8.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia da superfície e da seção transversal dos filmes foi investigada por microscopia eletrônica de varredura (MEV, Tescan Veja 3 LMU). Antes das análises os filmes foram equilibrados em dessecador contendo sílica gel (25 ± 2°C) por um período de 7 dias. Para as análises de seção transversal, os filmes foram previamente criofraturados por imersão em nitrogênio líquido antes da visualização. As amostras foram fixadas em suportes com fita de cobre e metalizadas por uma fina camada de ouro (Balzers Union, modelo FL 9496). As imagens foram capturadas usando voltagem de aceleração de 10 kV. A caracterização foi realizada no Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR.

#### 3.4.8.2 Espectroscopia de absorção no Infravermelho

Os filmes emulsionados e o filme controle foram analisados utilizando-se a espectroscopia na região do infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR), segundo Vicentini (2003). A análise foi realizada empregando-se um equipamento Vertex 70 (Bruker, USA), com acessório de refletância total atenuada (ATR), equipado com um cristal de carbono, a 25 ± 2°C. Os filmes foram acondicionados em um suporte e comprimidos a uma pressão elevada e controlada. As análises espectrofotométricas foram realizadas na faixa espectral de 600–4000 cm<sup>-1</sup> e resolução de 4 cm<sup>-1</sup>.



### 3.5 PRODUÇÃO DE SACHÊS PARA ARMAZENAMENTO DE AZEITE DE OLIVA A PARTIR DOS FILMES EMULSIONADOS

Sachês foram produzidos com os filmes emulsionados utilizando LS como surfactante para embalar azeite de oliva como condimento para consumo individual. O desenvolvimento da aplicação dos filmes foi baseado no estudo desenvolvido por SOUZA *et al.*, (2011), com pequenas modificações relacionadas ao tamanho e a espessura dos filmes usados na elaboração dos sachês e na forma de acondicionamento dos sachês durante a análise. Três formulações foram utilizadas para verificar a estabilidade do óleo nessas embalagens: as formulações G e I e uma terceira formulação, nomeada de controle 10% Lecitina. A formulação Controle 10% Lecitina (6,5% PIS, 20% etanol, 2,5:10 Gli:SPI, 1:10 LS:Gli) sem OC, foi elaborada com o intuito de investigar se OC exerceria algum efeito adicional na estabilidade do produto embalado.

Embalagens no formato de sachês com dimensões de 100 mm x 40 mm foram obtidas após a selagem dos filmes em seladora VC999K3/CH9100 (Suíça). Porções de  $5,0 \pm 1,0$  g foram acondicionadas nos sachês e estocadas em dessecador em condições controladas de UR ( $60 \pm 3\%$ ), conforme ilustrado na FIGURA 11. Os dessecadores foram armazenados a  $30 \pm 3$  °C, em estufa com simulação de período diurno/noturno (EletroLab, EL 202, Brasil, lâmpada de 20 W).



FIGURA 11 SACHÊS PARA ARMAZENAMENTO DE AZEITE DE OLIVA PARA CONSUMO EM PORÇÕES INDIVIDUAIS PRODUZIDOS A PARTIR DE FILMES EMULSIONADOS DE PIS, GLICEROL, ETANOL, LS E ÓLEO DE COCO.

A vida de prateleira dos sachês com azeite de oliva foi monitorado por 28 dias. A estabilidade oxidativa foi determinada pelo Índice de Peróxidos (POV) segundo o método oficial da AOCS Cd 8-53 (AOCS, 2001).

### 3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos resultados foi conduzida utilizando a análise de variância (One-Way ANOVA,  $p < 0,05$ ), utilizando o STATISTICA® (Statsoft, Tulsa, USA), versão 10. Médias que apresentaram diferença significativa foram analisadas pelo teste post-hoc de Tukey.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 RESULTADOS PRELIMINARES

#### 4.1.1 Determinação dos parâmetros operacionais

Ensaio preliminares foram realizados para determinar as condições operacionais mais adequadas para a elaboração dos filmes. Os parâmetros avaliados foram pH e a etapa adicional de homogeneização de alta rotação utilizada na elaboração dos filmes. Os testes foram realizados apenas no filme controle com o objetivo de conhecer o efeito destes parâmetros nas propriedades finais dos filmes. Uma vez conhecida a influência destas variáveis de processo, foi possível atribuir as possíveis modificações nas propriedades funcionais dos filmes somente à adição do OC e dos surfactantes.

##### a) pH

Os testes iniciais foram conduzidos inicialmente no pH característico da PIS dispersa em água ( $6,60 \pm 0,10$ ). Entretanto, nessa condição, a PIS apresentou baixa solubilidade no solvente aquoso, dificultando a incorporação dos componentes da matriz, o que resultou em filmes quebradiços e opacos, como observado na FIGURA 12a.

Os testes seguintes envolveram o aumento gradual do pH na faixa de 6,0 a 10,0, uma vez que a literatura relata que a solubilidade da PIS aumenta em condições alcalinas (do pH 6,0 para 8,0) e diminui próximo ao seu ponto isoelétrico (4,5) (CHOVE *et al.*, 2007). Os testes preliminares indicaram que no pH 9,0 a proteína foi melhor solubilizada do que nas demais condições avaliadas. Em condições alcalinas, os filmes produzidos foram homogêneos e manuseáveis, conforme visualizado na FIGURA 12b. No trabalho desenvolvido por Ou *et al.*, (2005), os autores verificaram que os filmes de PIS produzidos em pH 9,0 foram aproximadamente 153% mais flexíveis do que os filmes elaborados em pH 8,0. De forma similar, Cho *et al.*, (2007), relataram que o aumento do pH de 7,0 para 9,0 produziu filmes mais transparentes, aumentou a elongação em 30%, a resistência

em 19%, não influenciou na PVA e reduziu em 13% a permeabilidade ao oxigênio dos filmes.

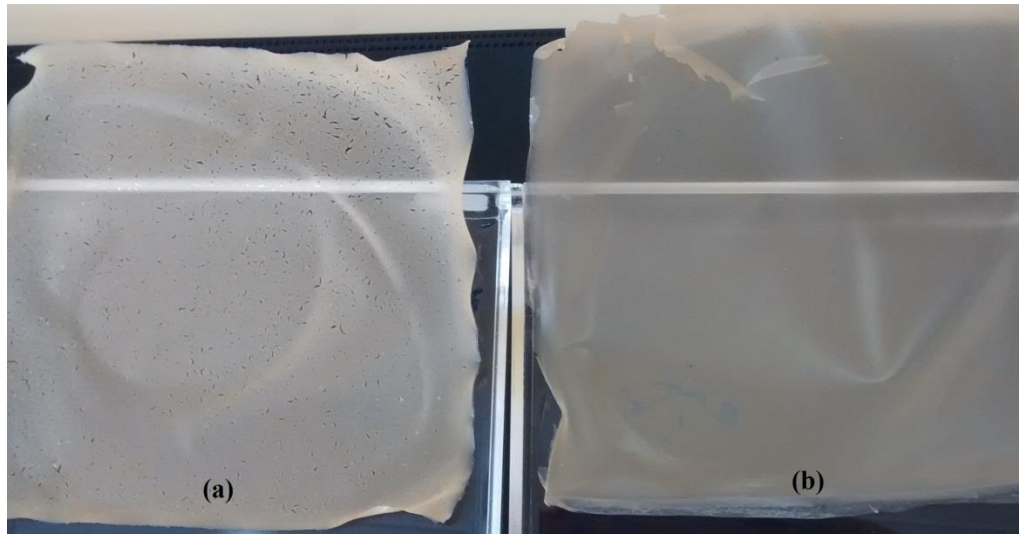


FIGURA 12 DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS OPERACIONAIS – ESCOLHA DO PH: (A) FILME CONTROLE PRODUZIDO EM PH NEUTRO (6,5) E (B) PH (9,0)

Esse comportamento pode ser explicado pela possível desnaturação parcial da proteína sofrida nessas condições, uma vez que tratamentos térmicos em meio alcalinos promovem um maior grau de desnaturação proteica (PETRUCCELLI e AÑÓN, 1994; QU et al., 2015). Extremos de pH alteram a carga líquida da proteína provocando repulsão eletrostática e rompimento de algumas ligações de hidrogênio, levando em expansão e desdobramento da estrutura proteica (NELSON e COX, 2002). Em extremos de pH alcalinos, a desnaturação da proteína tem início com a ionização dos grupos carboxílicos, sulfidrilas e fenólicos, que levam a cadeia polipeptídica a se desenrolar a medida que ocorre a exposição no meio aquoso (DAMODARAN, 2008). A desnaturação parcial é necessária para expor as cadeias laterais hidrofóbicas e também para promover ligações intra e intermoleculares das cadeias proteicas com os demais componentes.

#### b) Efeito da homogeneização na estrutura dos filmes de PIS

O efeito da etapa adicional de homogeneização de alta rotação (HAR) (13500 rpm/1min, 20500 rpm/2min) foi investigado no filme controle, para verificar sua influência nas propriedades mecânicas, de barreira ao vapor de água e estruturais nos filmes. Os resultados estão apresentados na TABELA 12. Observou-se que os

filmes que foram homogeneizados somente por agitação magnética, sem a etapa adicional da HAR, apresentaram a superfície áspera, provavelmente pela presença de partículas insolúveis remanescentes, como pode ser observado pela micrografia obtida pela Microscopia Eletrônica de Varredura (FIGURA 13). A aplicação da HAR mostrou efeito significativo ao nível de 95% de confiança nas propriedades de barreira ao vapor de água (PVA) e mecânica estudadas (RT e ELO%).

TABELA 12 EFEITO DA ETAPA ADICIONAL DE HOMOGENEIZAÇÃO DE ALTA ROTAÇÃO (HAR) NAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E DE BARREIRA NO FILME CONTROLE.

HAR*	PVA	RT	ELO	Umidade	Opacidade
Ausente	$(10,5 \pm 0,08) \times 10^{-11a}$	$9,86 \pm 0,94^a$	$145,19 \pm 8,39^a$	$11,10 \pm 1,14^a$	$4,26 \pm 0,29^a$
Presente	$(5,57 \pm 0,30) \times 10^{-11b}$	$12,05 \pm 0,61^b$	$103,75 \pm 16,78^b$	$11,65 \pm 1,17^a$	$4,53 \pm 0,18^a$

\* Todas as formulações contêm: Proteína Isolada de soja (PIS): 6,5% (m/m); Glicerol (Gli): 2,5:10 (Gli:PIS).

PVA (g/m s Pa): Permeabilidade ao vapor d'água; RT (MPa): Resistência à tração; ELO (%): Elongação na ruptura; Umidade (%); Opacidade (AU nm/μm).

Valores são médias  $\pm$  desvio padrão de cada formulação (propriedades mecânicas: n=10; PVA, umidade e opacidade: n=3). As diferenças significativas entre as médias foram identificadas pelo Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

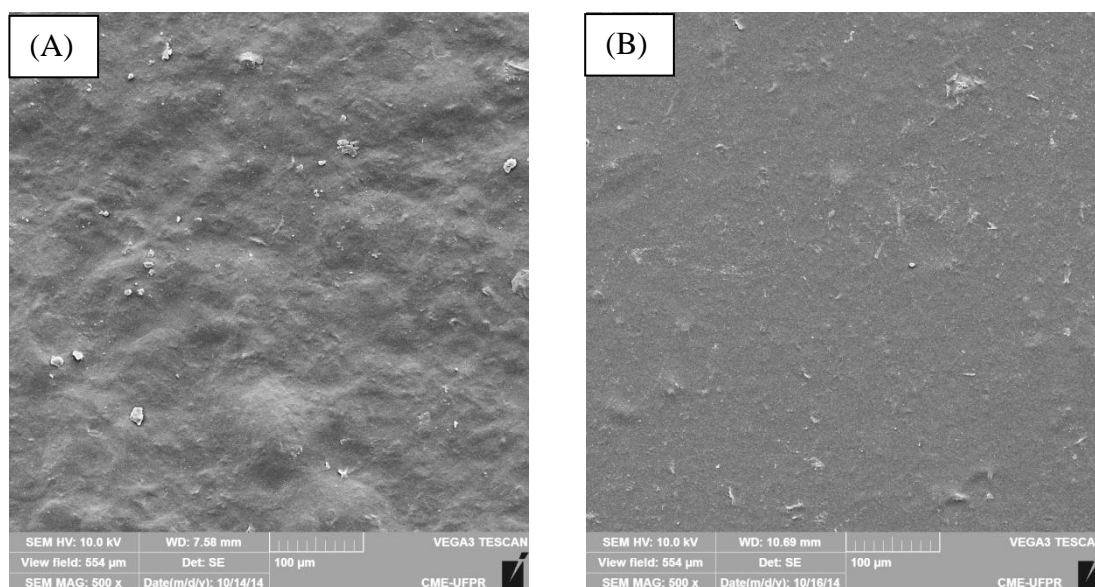


FIGURA 13 MICROGRAFIAS DO FILME CONTROLE: (A) SEM PROCESSO DE HOMOGENEIZAÇÃO; (B) SUBMETIDOS AO PROCESSO DE HOMOGENEIZAÇÃO (500 X).

A PVA do filme controle sem a etapa adicional de HAR foi de  $(10,5 \pm 0,08) \times 10^{-11}$  g /m s Pa. Quando estes filmes foram homogeneizados a permeabilidade diminuiu para  $(5,57 \pm 0,30) \times 10^{-11}$  g /m s Pa, com um percentual de redução de aproximadamente 47%. Nesses casos, a homogeneização de alta rotação possivelmente promoveu um maior grau de desnaturação proteica, contribuindo para

o seu desdobramento, exposição dos terminais hidrofóbicos e aumento da absorção interfacial.

A opacidade dos filmes controle com e sem homogeneização não diferiram entre si ( $p < 0.05$ ), ou seja, a homogeneização não foi uma variável do processo que apresentou influência nessa propriedade. Com relação às propriedades mecânicas, foi verificado um aumento de 26,31% na resistência a tração (RT) dos filmes, e redução de 28,54% na elongação (ELO) quando esses filmes foram submetidos à homogeneização.

As condições operacionais aplicadas para produção dos filmes neste estudo, condições alcalinas e homogeneização, favoreceram a formação de filmes com estruturas homogêneas, transparentes, com menores valores de barreira ao vapor de água e mais resistentes comparados aos filmes que não foram submetidos a estes processos.

#### 4.1.2 Definição das formulações dos filmes emulsionados

Após a definição dos parâmetros operacionais, foram realizados experimentos preliminares a fim de determinar a concentração limite dos componentes: PIS, plastificante (glicerol), surfactante (LS ou YS) e OC. Estes testes foram realizados com o objetivo de produzir filmes flexíveis e facilmente manipuláveis, sem exsudação de OC ou glicerol, sem separação visível de fases e que pudessem ser facilmente removidos do suporte.

Testes foram realizados com concentrações crescentes de PIS, variando de 5,0 a 9,0% (m/m). Os filmes com concentrações de proteína inferiores a 6,0 % foram frágeis e quebradiços e filmes acima de 7,0 % produziram uma solução altamente viscosa após o aquecimento, o que dificultou o plaqueamento da solução formadora. Assim, a concentração de PIS foi fixada em 6,5 % (m/m).

A proporção de plastificante (Glicerol) foi fixada na concentração de 2,5:10 (Gli:PIS), uma vez que os filmes produzidos com concentrações inferiores mostraram-se frágeis e quebradiços durante a remoção do suporte. Os filmes produzidos na proporção de 3,5:10 apresentaram as mesmas características de flexibilidade dos filmes com concentrações intermediárias de plastificante,

entretanto, decorrente na natureza hidrofílica do glicerol, optou-se fixar a concentração máxima em 2,5:10, de forma a minimizar a permeação de água nos filmes.

Nos primeiros ensaios, a proporção de surfactante foi fixada em 0,3:10 (LS:Gli) e concentrações crescentes de OC foram adicionados a formulação (0,1:10, 0,4:10, 0,7:10 e 1:10, OC:PIS) até que a saturação da matriz (excesso de OC) fosse visível após o processo de secagem. Os filmes foram visualmente homogêneos até proporções de 0,7:10. A incorporação de OC não foi possível sem a adição de surfactante. O filme controle foi produzido a partir de soluções contendo somente PIS, plastificante, água e etanol.

## 4.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados serão descritos segundo a caracterização das propriedades dos filmes emulsionados em função dos dois tipos de surfactantes utilizados. Desta forma, é possível definir qual o melhor surfactante para cada propriedade, bem como a concentração ideal de OC e surfactante.

### 4.2.1 Espessura

A espessura e o volume de solução necessário para manter a espessura constante nos filmes após a etapa de secagem estão descritos na TABELA 13. As espessuras dos filmes desenvolvidos variaram entre  $67,5 \pm 3,3$  a  $72,5 \pm 2,5$   $\mu\text{m}$  (Filmes utilizando LS) e  $61,4 \pm 5,3$  a  $71,2 \pm 3,9$   $\mu\text{m}$  (Filmes utilizando YS). A espessura do filme controle foi  $63,5 \pm 2,6$   $\mu\text{m}$ . Como a fração de sólidos variou entre as formulações, foi realizado um balanço de massa a fim de trabalhar com volumes diferentes para obter espessuras similares. Entretanto, observou-se que as espessuras obtidas ainda apresentaram uma pequena variação. Em todos os casos, as espessuras dos filmes com LS foram maiores que os respectivos utilizando YS, associado possivelmente à estrutura de cada surfactante a sua interação com os demais componentes. O mesmo comportamento foi observado por Andreuccetti *et al.*, (2011), onde os autores observaram que a espessura dos filmes de gelatina

emulsionados com lecitina de soja ( $43,13 \pm 5,26 \mu\text{m}$ ) foram maiores do que aqueles emulsionados com extrato de YS ( $33,54 \pm 1,87 \mu\text{m}$ ).

TABELA 13 VOLUME DE SOLUÇÃO (SSF) UTILIZADO EM CADA FORMULAÇÃO E RESPECTIVAS ESPESSURAS OBTIDAS PARA O FILME CONTROLE E OS FILMES EMULSIONADOS.

Formulação	Surf:Gli (m:m)	OC:PIS (m:m)	SFF (mL)	Espessura ( $\mu\text{m}$ )	
				LS	YS
A	3:10	0,7:10	20,0	$70,2 \pm 3,3^{aBC}$	$70,4 \pm 8,8^{aBC}$
B	3:10	0,4:10	20,4	$72,5 \pm 2,5^{aC}$	$67,3 \pm 3,4^{aABC}$
C	3:10	0,1:10	20,9	$69,3 \pm 3,4^{aBC}$	$68,6 \pm 2,9^{aABC}$
D	2:10	0,7:10	20,3	$68,5 \pm 2,9^{aBC}$	$63,0 \pm 7,7^{aAB}$
E	2:10	0,4:10	20,8	$69,3 \pm 3,0^{aBC}$	$71,2 \pm 3,9^{bC}$
F	2:10	0,1:10	21,3	$70,4 \pm 2,7^{aBC}$	$68,6 \pm 6,7^{abABC}$
G	1:10	0,7:10	20,7	$72,5 \pm 3,1^{bC}$	$68,8 \pm 3,4^{bABC}$
H	1:10	0,4:10	21,2	$69,5 \pm 3,0^{abBC}$	$67,8 \pm 6,0^{bABC}$
I	1:10	0,1:10	21,7	$67,5 \pm 3,3^{aAB}$	$61,4 \pm 5,3^{aA}$
CONTROLE	0:10	0:10	22,3	$63,5 \pm 2,8^A$	$63,5 \pm 2,8^{ABC}$

\* Todas as formulações contêm: 6,5% de PIS (m/m); 20% etanol (m/m) e 2,5:10 (Gli:PIS). Valores de espessura são médias  $\pm$  desvio padrão de cada formulação ( $n=10$ ). Médias com diferentes letras são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ): letras maiúsculas (comparação entre todas as formulações incluindo a formulação controle); letras minúsculas (comparação entre as concentrações fixas de surfactante).

A LS é um surfactante anfótero, composto de um ou mais grupamentos hidrofóbicos ligados a uma cadeia de glicerol, um grupamento fosfato e um álcool (STAUFFER, 2005). Já a saponina de YS possui um grupamento do tipo esteroideal (parte hidrofóbica) e cadeias de açúcares (parte hidrofílica) (HOSTETTMANN e MARSTON, 1995; KANEDA *et al.*, 1987; KOWALCZYK *et al.*, 2011). Mesmo com uma estrutura com elevada massa molar, as cadeias de açúcares da saponina podem formar ligações com parte polar da SFF (solução aquosa) e formar estruturas mais compactas que quando a LS é utilizada. Comparando estruturalmente as duas moléculas, a LS parece ter um maior impedimento estérico e maior volume decorrente dos quatro tipos de componentes presentes na sua cadeia. Além disso, se o surfactante não estiver associado às cadeias proteicas, pode ocorrer um aumento no volume de espaços vazios na estrutura, e consequente aumento na espessura, o que pode influenciar outras propriedades (GONTARD *et al.*, 1994).



#### 4.2.2 Solubilidade

A solubilidade em água dos filmes emulsionados utilizando LS ou extrato de YS estão descritos na TABELA 14. Em todas as formulações avaliadas os filmes emulsionados mantiveram sua integridade após agitação e contato com a água a 25°C.

TABELA 14 SOLUBILIDADE DO FILME CONTROLE E DOS FILMES EMULSIONADOS

Formulação	Surf:Gli (m:m)	OC:PIS (m:m)	Solubilidade (%)	
			LS	YS
A	3:10	0.7:10	23,74 ± 1,74 <sup>bE</sup>	16,05 ± 0,65 <sup>bAB</sup>
B	3:10	0.4:10	20,40 ± 0,59 <sup>aBCD</sup>	14,43 ± 0,11 <sup>aA</sup>
C	3:10	0.1:10	20,10 ± 0,60 <sup>aBCD</sup>	19,17 ± 0,90 <sup>cCD</sup>
D	2:10	0.7:10	18,12 ± 0,43 <sup>aAB</sup>	17,43 ± 0,29 <sup>aBCD</sup>
E	2:10	0.4:10	18,14 ± 1,15 <sup>aAB</sup>	17,21 ± 0,34 <sup>aBC</sup>
F	2:10	0.1:10	22,32 ± 1,00 <sup>bDE</sup>	17,92 ± 0,49 <sup>aBCD</sup>
G	1:10	0.7:10	19,87 ± 0,81 <sup>aBCD</sup>	17,39 ± 1,11 <sup>aBCD</sup>
H	1:10	0.4:10	19,32 ± 0,13 <sup>aBC</sup>	18,23 ± 1,43 <sup>aBCD</sup>
I	1:10	0.1:10	21,54 ± 1,41 <sup>aCDE</sup>	19,81 ± 1,43 <sup>aD</sup>
CONTROLE	0:10	0:10	16,15 ± 0,57 <sup>A</sup>	16,15 ± 0,57 <sup>AB</sup>

\* Todas as formulações contêm: 6,5% de PIS (m/m); 20% etanol (m/m) e 2,5:10 (Gli:PIS). Valores de solubilidade são médias ± desvio padrão de cada formulação (n=3). Médias com diferentes letras são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ): letras maiúsculas (comparação entre todas as formulações incluindo a formulação controle); letras minúsculas (comparação entre as concentrações fixas de surfactante).

A solubilidade dos filmes produzidos com os dois tipos de surfactantes foram maiores ou iguais ao filme controle (16,15%). Comparando os dois surfactantes, é possível verificar que os filmes emulsionados com YS (14,43 a 19,81%) apresentaram menores valores de solubilidade que os filmes com LS (18,12 a 23,74%), estando esse mecanismo associado principalmente à estrutura dos surfactantes. A alta solubilidade da YS na solução formadora possivelmente permitiu sua melhor dispersão e interação com os demais componentes quando comparado com a LS. Era esperado que a incorporação do componente lipídico reduzisse a solubilidade dos filmes em água devido a sua natureza hidrofóbica (ZAHEDI *et al.*, 2010; BAHRAM *et al.*, 2013). Entretanto, a presença dos componentes lipídicos

podem ter reduzido as interações moleculares entre as cadeias proteicas, aumentando assim a solubilização dos componentes em água (GONTARD *et al.*, 1994). Resultados similares foram observados por Bertan *et al.*, (2005a) ao elaborar filmes de gelatina com ácidos graxos e por Rhim *et al.*, (1999) onde a solubilidade dos filmes compostos de isolado proteico de soja e ácido láurico aumentaram significativamente com o aumento da concentração de ácido.

A solubilidade do filme de PIS não foi reduzida pela adição de OC e surfactantes. Os filmes emulsionados foram mais solúveis ou iguais ao filme controle, onde uma maior variação na solubilidade foi verificada quando LS foi empregado na matriz.

#### 4.2.3 Opacidade

A opacidade dos filmes para ambos os surfactantes estão descritos graficamente na FIGURA 14 e os dados tabelados podem ser encontrados no Apêndice (TABELA A1). A opacidade do filme controle foi de  $4,53 \pm 0,18$  AU x nm/ $\mu$ m. Para os filmes emulsionados com LS esses valores variaram de  $3,93 \pm 0,17$  a  $6,31 \pm 0,12$  AU x nm/ $\mu$ m e de  $3,61 \pm 0,17$  a  $6,75 \pm 0,71$  AU x nm/ $\mu$ m para os filmes com YS. Quando o OC foi incorporado em baixas proporções (0,1:10), independente do tipo e da concentração de surfactante, não foram verificadas diferenças significativas na opacidade dos filmes ( $p < 0,05$ ).

Entre os filmes emulsionados com LS, a opacidade aumentou linearmente com o aumento da concentração de OC (0,1 a 0,7). O aumento da opacidade dos filmes pode ser explicado devido à cristalização do OC a temperatura ambiente. O OC apresenta características de fusão precisas: a 21°C é duro e quebradiço, comportamento este típico de óleos ou gorduras onde o ácido láurico é predominante (45,9 a 50,3% do total de 90% ácidos graxos saturados) (O'BRIEN, 2009). Assim, após o processo de secagem dos filmes, os agregados lipídicos podem ter coalescido e formado zonas concentradas de OC nas estruturas, levando o aumento da opacidade destes filmes.

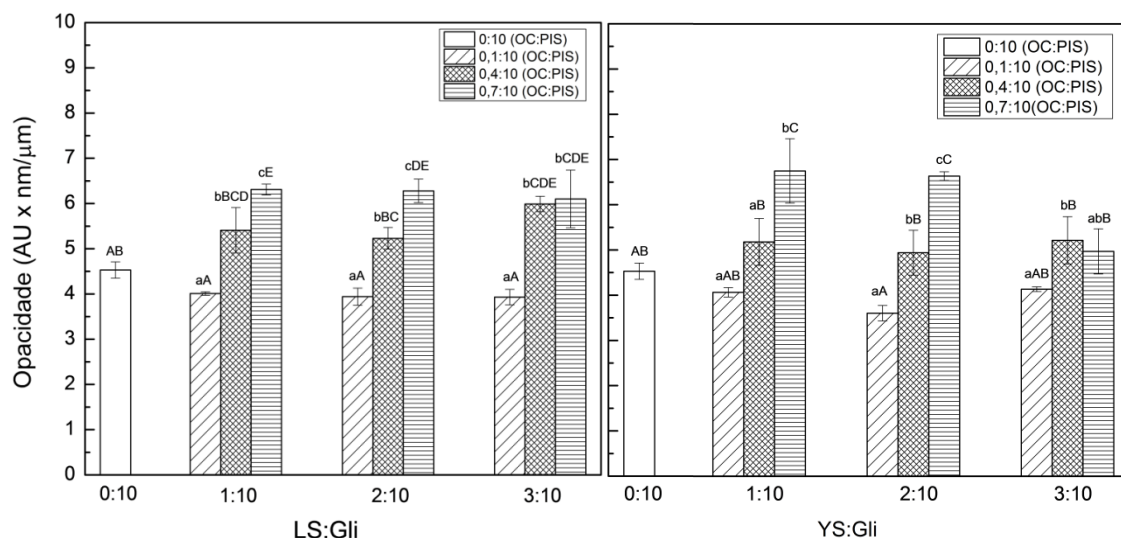


FIGURA 14 OPACIDADE DO FILME CONTROLE E DOS FILMES EMULSIONADOS PRODUZIDOS COM OC E DOIS TIPOS DE SURFACTANTES: LS OU EXTRATO DE YS.

\* Todas as formulações contêm: Proteína isolada de soja (PIS): 6,5% (m/m); Etanol: 20% (m/m); Glicerol (Gli): 2,5:10 (Gli:SPI). Valores de opacidade são médias  $\pm$  desvio padrão de cada formulação ( $n=3$ ). Médias com diferentes letras são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ): letras maiúsculas (comparação entre todas as formulações incluindo a formulação controle); letras minúsculas (comparação entre as concentrações fixas de surfactante).

Quando extrato de YS foi utilizado na maior proporção (3:10), observou-se um comportamento diferente das demais formulação com YS ou com LS. Em todas as concentrações de OC, a opacidade foi estatisticamente igual ao controle ( $p < 0,05$ ), indicando o desenvolvimento de uma estrutura interna de emulsão diferente das demais formulações. A transparência dos filmes é influenciada pela estrutura da emulsão, volume de lipídios dispersos e com a estrutura interna desenvolvida durante a secagem dos filmes (VILLALOBOS *et al.*, 2005). Outros autores também verificaram que o surfactante pode melhorar a transparência de filmes compostos (CARNEIRO-DA-CUNHA *et al.*, 2009; CHEN, KUO, e LAI, 2009).

Um aumento na opacidade dos filmes decorrente da adição de componentes hidrofóbicos em matrizes proteicas também foi observado por Bertan *et al.*, (2005a) (filme de gelatina, triacetina e blenda de componentes hidrofóbicos), Cerqueira *et al.*, (2012) (filme de quitosana, óleo de milho e Tween 80) e Wang *et al.*, (2014) (filme de PIS, ácido oleico e esteárico. Tongnuanchan, Benjakul e Prodpran, (2014) verificaram comportamento similar ao deste trabalho, onde a opacidade aumentou com a incorporação de óleos (óleo de citronela e manjeriço), independente do surfactante utilizado (Tween 20, 80 ou lecitina de soja).

A opacidade dos filmes foi dependente principalmente da inclusão do componente hidrofóbico na matriz. Nos filmes produzidos com YS na maior proporção de OC, foi possível a obtenção de filmes mais transparentes do que os filmes com LS nas mesmas condições. Assim, a escolha da formulação mais adequada dependerá do produto a qual esta embalagem será destinada.

#### 4.2.4 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

Os resultados de PVA para o controle e para o filmes emulsionados estão descritos graficamente na FIGURA 15. Dados tabelados podem ser consultados no Apêndice (TABELA A2). A PVA dos filmes emulsionados variaram de  $(5,99 \pm 0,71) \times 10^{-11}$  a  $(12,0 \pm 0,06) \times 10^{-11}$  (g/m s Pa) e  $(3,60 \pm 0,17) \times 10^{-11}$  a  $(7,51 \pm 0,72) \times 10^{-11}$  (g/m s Pa) para os filmes contendo LS ou YS, respectivamente. Para o controle, esse valor foi de  $(5,57 \pm 0,30) \times 10^{-11}$  (g /m s Pa), indicando que a interação da YS e do OC, provocou uma redução da permeação de vapor de água em algumas formulações.

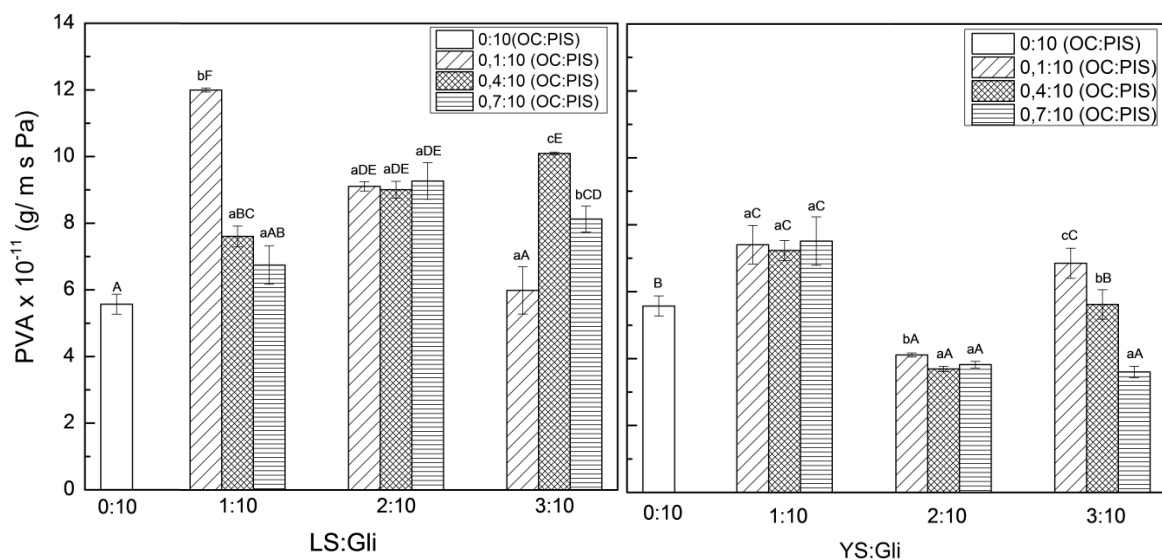


FIGURA 15 PVA DO FILME CONTROLE E DOS FILMES EMULSIONADOS PRODUZIDOS COM OC E DOIS TIPOS DE SURFACTANTES: LS OU EXTRATO DE YS.

\* Todas as formulações contêm: Proteína isolada de soja (PIS): 6,5% (m/m); Etanol: 20% (m/m); Glicerol (Gli): 2,5:10 (Gli:PIS). Valores de PVA são médias  $\pm$  desvio padrão de cada formulação (n=3). Médias com diferentes letras são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ): letras maiúsculas (comparação entre todas as formulações incluindo a formulação controle); letras minúsculas (comparação entre as concentrações fixas de surfactante).

#### 4.2.4.1 Filmes emulsionados produzidos com OC e LS

Nos filmes emulsionados com LS e OC, não foi verificado a redução dos valores de PVA quando comparado ao controle. Nas formulações que não diferiram do controle, observou-se um equilíbrio entre os componentes, com máximo e mínimo de LS e OC alternados. Nas demais formulações a adição destes componentes possivelmente levou à desestabilização da estrutura, devido à inserção de moléculas de grandes volumes ou com impedimento estérico (GONTARD *et al.*, 1994), como é o caso da LS ou do OC. Ao adicionar LS e OC, os mesmos podem se posicionar na estrutura e não se ligar aos demais constituintes, principalmente com as cadeias proteicas, podendo ocorrer a formação de espaços pelos quais a água pode permear pela estrutura com mais facilidade.

Era esperado que a porção hidrofóbica do surfactante auxiliasse na redução da taxa de solubilidade e difusão das moléculas de água pela estrutura dos filmes emulsionados (RHIM *et al.*, 2002). Entretanto, esse efeito não foi verificado, possivelmente porque a LS é um surfactante do tipo lipofílico, pouco solúvel em meio aquoso e tende a formar emulsões do tipo água/óleo. Assim, a baixa solubilidade da LS em água e a natureza lipofílica deste surfactante pode ter provocado uma distribuição não homogênea do surfactante e, conseqüentemente, do componente lipofílico (OC). Esse comportamento foi verificado por outros autores, os quais também relacionaram a diminuição da PVA com o aumento da solubilidade do surfactante no meio (CHEN, KUO, e LAI, 2009; ANDREUCCETTI *et al.*, 2011). Quanto maior a solubilidade do surfactante em meio aquoso (MYERS, 2006; O'BRIEN, 2009), maior a possibilidade da formação de ligações de hidrogênio entre os grupos polares do surfactante e da parte hidrofílica das proteínas e/ou plastificante, o que pode reduzir consideravelmente o número de grupos hidrofílicos disponíveis para se ligar à água (CHEN *et al.*, 2009).

#### 4.2.4.2 Filmes emulsionados produzidos com OC e extrato de YS

A incorporação de OC e YS melhorou as propriedades de barreira ao vapor de d'água dos filmes, onde o menor valor de PVA obtido representou um decréscimo de 35,36% com relação ao filme controle.

Na maior concentração de surfactante (3:10, YS:Gli), foi verificado uma correlação direta da redução de PVA com o aumento de OC. Na proporção intermediária de surfactante (2:10, YS:Gli), os valores de PVA foram diferentes e menores que o controle ( $p < 0,05$ ). Abaixo desta concentração de surfactante, (1:10, YS:Gli), houve um aumento na PVA dos filmes emulsionados, independente do conteúdo de OC. Um dos mecanismos propostos é que na proporção intermediária YS, o surfactante deve ter atingido a concentração no qual tem início a formação de agregados ou micelas. Essas micelas se orientam de acordo com a natureza dos componentes, e por isso são capazes de produzir emulsões mais estáveis. Uma vez que essas emulsões são mais estáveis é possível assumir que o OC está disperso de maneira mais uniforme na matriz, e por isso pode exercer seu papel hidrofóbico na estrutura, melhorando a barreira ao vapor d'água desses filmes.

Além disso, a associação de grupos polares da proteína com os açúcares presentes na molécula da YS (parte hidrofílica), reduz a possibilidade de formação de pontes de hidrogênio com a umidade do ambiente (ANDREUCCETTI *et al.*, 2010b), diminuindo assim a taxa da molécula permeante na estrutura.

Na proporção máxima de YS (3:10), a PVA decresceu com o aumento do OC. Ao utilizar o OC em baixas proporções, a parte hidrofílica do surfactante possivelmente predominou na estrutura, com frações de açúcares ainda disponíveis para interagirem com a água. Ao aumentar a proporção de OC, houve um aumento do caráter hidrofóbico dos filmes. Esse comportamento corrobora com os dados experimentais obtidos para a solubilidade dos filmes com YS, evidenciando a influência da concentração e da natureza do surfactante utilizado.

Os valores de PVA obtidos nesse estudo para ambos os surfactantes foram menores que outros trabalhos listados na literatura envolvendo PIS (DENAVI *et al.*, 2009,  $1,25 \times 10^{-10}$  a  $1,54 \times 10^{-10}$  g /m s Pa) e filmes de PIS incorporado com cera de abelha, Span 20 e glicerol (CHAO *et al.*, 2010;  $3,30 \times 10^{-10}$  a  $4,08 \times 10^{-10}$  g /m s Pa). Outros estudos relacionados com filmes proteicos mostram comportamento similar a este estudo, como os filmes produzidos a partir de proteína de soro de leite e glicerol (RAMOS *et al.*, 2013;  $9,55 \times 10^{-11}$  a  $1,62 \times 10^{-10}$  g /m s Pa) e gelatina, triacetina, ácido láurico e blendas de ácido esteárico e palmítico (BERTAN *et al.*, 2005a,  $5,21 \times 10^{-11}$  a  $6,76 \times 10^{-11}$  g /m s Pa).

Comparando os dois surfactantes utilizados, com relação à barreira ao vapor de água desses filmes, conclui-se que a YS foi o surfactante mais apropriado para melhorar essa propriedade. Esse comportamento ocorreu principalmente devido à maior solubilidade da YS na solução formadora quando comparado a LS. A natureza e estabilidade das emulsões formadas para cada tipo de surfactante foi dependente dessa solubilidade e impactou diretamente na estrutura formada após a evaporação dos solventes.

#### 4.2.5 Propriedades Mecânicas

A FIGURA 16 ilustra a elongação (%) e RT (MPa) dos filmes para ambos os surfactantes em adições crescentes de OC. Os dados tabelados podem ser encontrados no Apêndice (TABELA A3 E A4).

##### 4.2.5.1 Elongação

A elongação dos filmes variou com a formulação utilizada. A elongação do filme controle foi de  $103,75 \pm 16,78\%$ . Entre os filmes emulsionados com LS esses valores variaram de  $136,77 \pm 8,88$  a  $273,94 \pm 15,04\%$  e de  $94,51 \pm 15,97\%$  até  $250,78 \pm 23,45\%$  para filmes com YS. Os resultados indicam que a incorporação do OC e surfactantes aumentaram a flexibilidade dos filmes. Acredita-se que o óleo de coco tenha atuado como plastificante ou lubrificante na matriz, diminuindo a força intermolecular entre as cadeias de proteínas adjacentes e aumentando a flexibilidade dos filmes (CALLEGARIN *et al.*, 1997). Esse comportamento também foi verificado por Binsi, Ravishankar e Gopal, (2013), com a incorporação de OC em filmes de quitosana.

Comparando os dois surfactantes, observa-se que os filmes produzidos com LS foram mais flexíveis que os filmes elaborados com YS. Os ácidos graxos e o glicerol presentes na fração apolar da LS podem explicar em parte esse comportamento, atuando de maneira análoga ao OC. A adição de LS acima da proporção intermediária (2:10) resultou em um leve decréscimo na elongação dos filmes. Isso porque caso a LS seja adicionada em excesso, e não esteja associada com as proteínas, pode levar à ruptura e descontinuidades nas estruturas. Resultado

similar ao verificado neste trabalho foi obtido por Andreucetti *et al.*, (2011) ao estudar a influência dos surfactantes LS e YS nas propriedades mecânicas de filmes de gelatina, onde filmes produzidos com LS foram mais flexíveis do que os filmes elaborados com YS. Os autores atribuíram esse comportamento a diferença de hidrofobicidade entre os dois surfactantes.

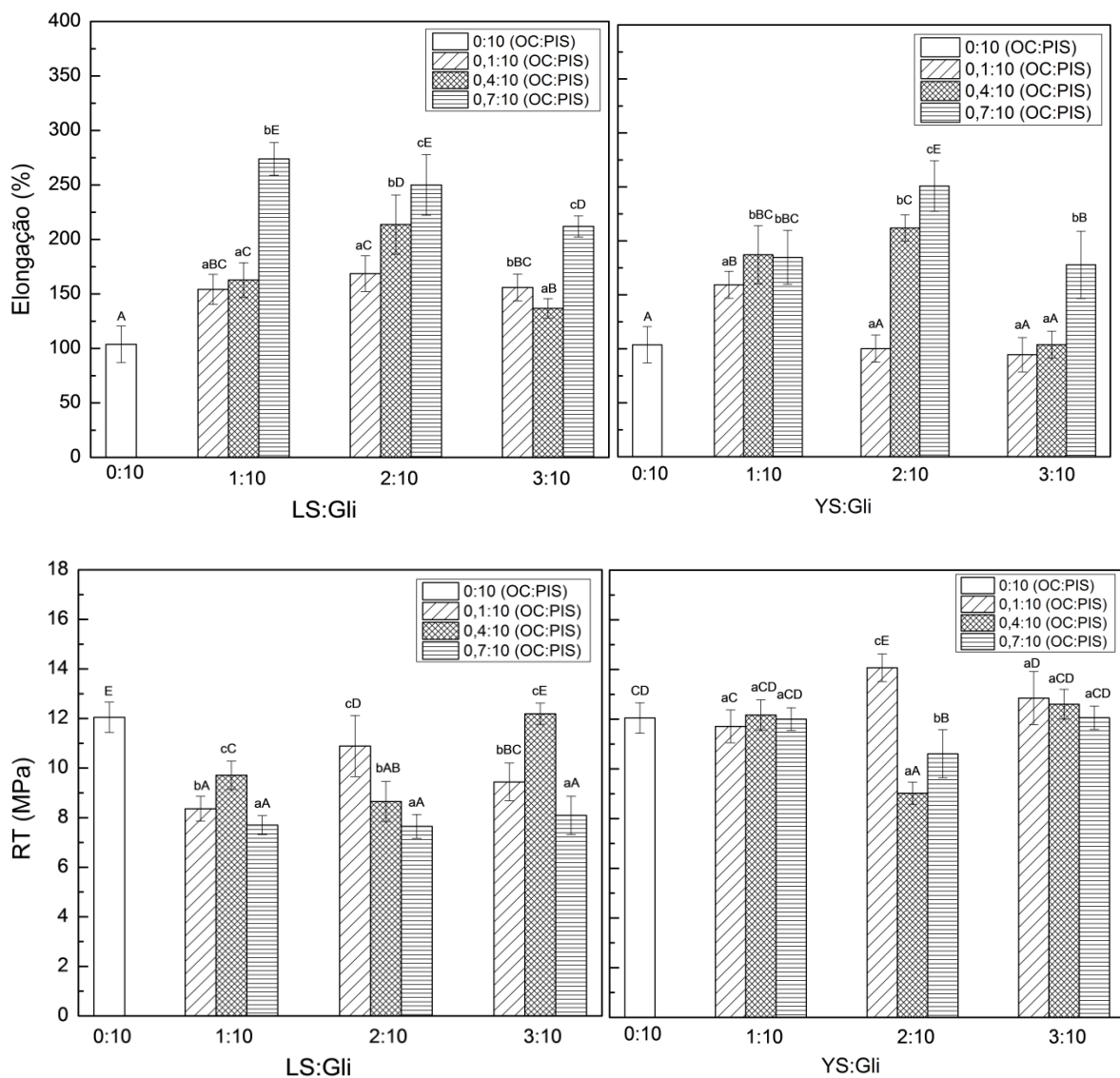


FIGURA 16 ELONGAÇÃO (ELO %) E RT DO FILME CONTROLE E DOS FILMES EMULSIONADOS PRODUZIDOS COM OC E DOIS TIPOS DE SURFACTANTES: LS OU EXTRATO DE YS.

\* Todas as formulações contêm: Proteína isolada de soja (PIS): 6,5% (m/m); Etanol: 20% (m/m); Glicerol (Gli): 2,5:10 (Gli:SPI). Valores de elongação e RT são médias  $\pm$  desvio padrão de cada formulação (n=10). Médias com diferentes letras são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (p < 0,05): letras maiúsculas (comparação entre todas as formulações incluindo a formulação controle); letras minúsculas (comparação entre as concentrações fixas de surfactante).

Acredita-se que a utilização da YS permitiu produzir estruturas mais estáveis, com a formação agregados micelares. As micelas são moléculas de grandes



dimensões, que ao serem inseridas na estrutura podem causar descontinuidades, e dificultar a interação entre as cadeias poliméricas (CHEN, KUO, e LAI, 2009). Além disso, o OC que possivelmente estava disperso na matriz atuando como lubrificante como no caso da LS, quando aprisionados em micelas, não pode interagir com os demais componentes do meio, levando a redução na flexibilidade dos filmes emulsionados.

A elongação dos filmes emulsionados verificados neste trabalho foram maiores que outros relatados na literatura, como por exemplo, para filmes de PIS e glicerol (39,9 a 51,2% CHO *et al.*, 2007), gelatina e glicerol (5,3 a 7,2%, BERTAN, 2008), gelatina, plastificante hidrofóbico (citrato de tributíla), lecitina de soja (3,06 a 5,90 %, ANDREUCCETTI, CARVALHO e GROSSO, 2009) e quitosana e OC (14,3 a 39,7 %, BINSI, RAVISHANKAR e GOPAL, 2013). A flexibilidade dos filmes emulsionados desenvolvidos neste estudo é comparável ao polímero sintético (nylon/polietileno linear de baixa densidade catalisado por metaloceno) utilizado comercialmente para sachês de tempero (179,2%; CHO, LEE e RHEE, 2010).

#### 4.2.5.2 Resistência a Tração

A RT mostrou efeito oposto à elongação, ou seja, a incorporação de OC na matriz gerou um decréscimo na força destes filmes. A resistência dos filmes elaborados com LS ( $7,65 \pm 0,48$  a  $12,19 \pm 0,43$  MPa), na maioria das formulações foi menor que o valor obtido para o filme controle ( $12,05 \pm 0,61$  MPa) ( $p < 0,05$ ). Esse mecanismo pode ser explicado pela substituição parcial das ligações entre os polímeros na matriz pelas novas ligações formadas pelos polímeros e lipídeos. As interações entre moléculas dos polímeros (proteína-proteína) são mais fortes do que aquelas envolvendo lipídeos e as moléculas dos polímeros (YANG e PAULSON, 2000). A adição de lipídeos na matriz por meio de uma emulsão pode propiciar o desenvolvimento de descontinuidades na rede dos polímeros, como pontos de quebras, que podem conduzir a uma diminuição da RT (BRAVIN, PERESSINI e SENSIDONI, 2004). O decréscimo na RT devido a adição de lipídeos na matriz também foi observada por Valenzuela, Abugoch e Tapia (2013), Atarés *et al.* (2010), e Yang e Paulson (2000).

Nos filmes emulsionados com YS, não foram observadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre o controle ( $12,05 \pm 0,61$  MPa) e os filmes emulsionados ( $11,71 \pm 0,66$  a  $12,85 \pm 1,07$  MPa), exceto para as formulações com proporções intermediárias de surfactante (2:10, YS:Gli) ( $9,02 \pm 0,45$  a  $14,07 \pm 0,56$ ). A redução na RT era esperada com a adição de componentes hidrofóbicos, uma vez que os lipídeos podem interferir nas interações do tipo proteína-proteína ou levar a segregação da fase lipídica (TAPIA-BLÁCIDO *et al.*, 2007).

A resistência à tração dos filmes emulsionados neste trabalho para ambos os surfactantes foram maiores do que outros trabalhos descritos na literatura, por exemplo, envolvendo PIS comercial (1,4 a 4,1 MPa; DENAVI *et al.*, 2009), filmes de PIS incorporado ácido ferúlico (pH 9,0, 2,06 a 2,17 MPa, OU *et al.*, 2005), filmes de PIS incorporado com óleo de linhaça (2,35 MPa a 5,35 MPa; HOPKINS *et al.*, 2015) e filmes de glúten (0,45 a 1,35 MPa, BERTAN, 2008). Os valores de RT dos filmes emulsionados produzidos neste trabalho são comparáveis a RT do filme de polietileno de baixa-densidade, 8,34 MPa (ARVANITOYANNIS *et al.*, 1998).

De um modo geral, a adição de óleo de coco promoveu a flexibilidade dos filmes de PIS, independente do surfactante. Para os filmes produzidos com LS, esse aumento foi mais expressivo, entretanto foi acompanhado de redução na resistência desses filmes. A flexibilidade desses filmes permite que os mesmos sejam aplicados em uma gama de produtos alimentícios, uma vez que as embalagens produzidas podem se adaptar à superfície dos produtos. Essa característica é desejável e importante para alimentos, pois as embalagens podem manter sua integridade e assim como a qualidade do produto embalado.

Na FIGURA 17 é possível observar alguns alimentos com características diferentes que puderam ser embalados pelos filmes emulsionados produzidos neste trabalho. Pensando em propriedades mecânicas, os filmes emulsionados desenvolvidos puderam ser aplicados para embalar produtos líquidos oleosos (azeite de oliva) e produtos com superfície irregular, como frutas *in-natura* (banana) e folhas de erva-mate. Entretanto, para a aplicação efetiva destas embalagens é necessário que as demais propriedades, principalmente PVA e solubilidade, atendam os requisitos para a manutenção da qualidade desses produtos.

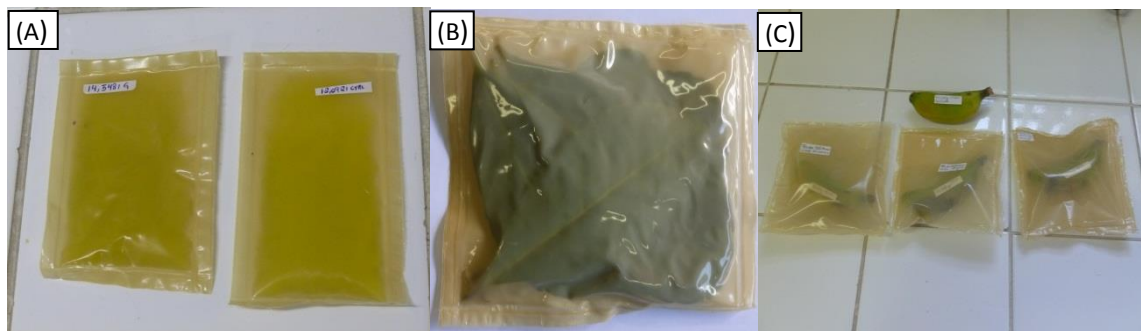


FIGURA 17 FILMES EMULSIONADOS UTILIZADOS PARA EMBALAR ÓLEO DE OLIVA (A), FOLHAS DE ERVA-MATE (B) E BANANA IN NATURA(C).

#### 4.2.6 Análise Termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica tem sido aplicada a filmes biodegradáveis com objetivo de fornecer informações sobre a sua estabilidade térmica. O comportamento do filme controle e dos filmes emulsionados nas maiores proporções de surfactantes (LS e YS) e OC estão ilustrados na FIGURA 18 e os eventos e as respectivas perdas de massa descritos na TABELA 15.

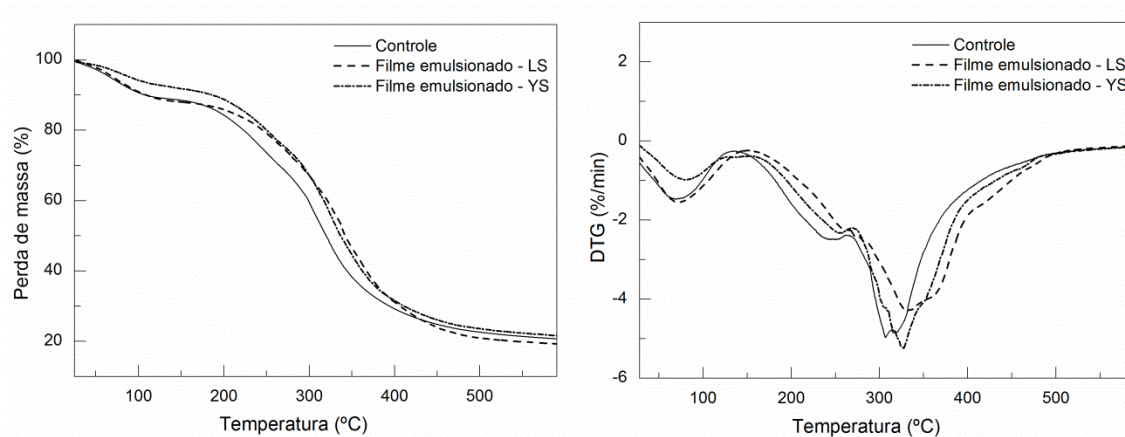


FIGURA 18 CURVAS DE (A) TGA E (B) DTG PARA OS FILMES CONTROLE E PARA OS FILMES EMULSIONADOS.

Controle: 6,5 g PIS/100 g DE SOLUÇÃO; 20 g ETANOL /100 g SOLUÇÃO; 2,5:10 (GLI:PIS);  
Emulsionado - LS: FILME CONTROLE + 3:10 (LS:GLI); 0,7:10 (OC:PIS);  
Emulsionado - YS: FILME CONTROLE + 3:10 (YS:GLI); 0,7:10 (OC:PIS).

Todas as formulações, independente do surfactante utilizado, apresentaram quatro estágios de perda de massa bem definidos. O primeiro estágio foi verificado nas temperaturas de 70,80 °C ( $P_{1,\text{controle}}$ : 5,6%), 72,04 °C ( $P_{1,\text{LS}}$ : 5,3%) e 80,54 °C ( $P_{1,\text{YS}}$ : 4,5%). A perda de massa verificada nessa temperatura pode ser atribuída ao

início da evaporação da água livre ou da água fracamente ligada aos demais componentes (SU *et al.*, 2010; GUERRERO *et al.*, 2011; MARTINS *et al.*, 2012).

No primeiro evento de decomposição, o filme controle indicou uma maior perda de massa e menor temperatura de decomposição que os filmes emulsionados, independente do surfactante utilizado, tendo sido mais expressivo quando comparado a YS. A maior perda de massa do filme controle pode ser atribuída ao maior conteúdo de umidade deste filme ( $11,65 \pm 1,17\%$ ) quando comparado aos filmes emulsionados ( $9,86 \pm 0,36\%$  e  $10,63 \pm 0,46\%$ , filmes com LS e YS, respectivamente). Assim, no controle, possivelmente houve uma maior evaporação de água da estrutura dos filmes, como também verificado por Tongnuanchan, Benjakul e Prodpran (2014). A diferença de temperatura relatada no primeiro evento aos filmes emulsionados pode ser atribuída às ligações de hidrogênio realizadas entre as cadeias de açúcares da YS com o a água estrutural dos filmes. Dessa forma, acredita-se que uma menor quantidade de energia foi necessária para evaporar a água do filme controle, devido a esta se encontrar mais disponível ou mais fracamente ligada que a água presente nos filmes emulsionados.

TABELA 15 EVENTOS TÉRMICOS RELACIONADOS À ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA DO FILME CONTROLE E DOS FILMES EMULSIONADOS COM OC, LS OU YS.

Filme	Evento 1		Evento 2		Evento 3		Evento 4		Res (%)
	$T_{P1}(^{\circ}\text{C})$	$P_1(\%)$	$T_{P2}(^{\circ}\text{C})$	$P_2(\%)$	$T_{P3}(^{\circ}\text{C})$	$P_3(\%)$	$T_{P4}(^{\circ}\text{C})$	$P_4(\%)$	
Controle	70,80	5,6	266,95	30,5	306,83	43,8	318,14	49,2	20,63
Emul. LS	72,04	5,3	257,01	22,4	333,12	45,1	364,8	59,12	19,22
Emul. YS	80,54	4,5	257,60	21,6	308,16	36,20	320,95	41,89	21,57

$T_P$ : Temperatura de pico de degradação em cada evento;  $P(\%)$ : perda de massa observado a cada evento térmico; Res (%): resíduo final dos filmes a 600 °C.

Controle: 6,5 g PIS/100 g DE SOLUÇÃO; 20 g ETANOL /100 g SOLUÇÃO; 2,5:10 (GLI:PIS);

Emulsionado - LS: FILME CONTROLE + 3:10 (LS:GLI); 0,7:10 (OC:PIS);

Emulsionado - YS: FILME CONTROLE + 3:10 (YS:GLI); 0,7:10 (OC:PIS).

O segundo estágio foi observado nas temperaturas de pico de 266,95 °C ( $P_{2,\text{controle}}$ : 30,5%), 257,01 °C ( $P_{2,\text{LS}}$ : 22,4%) e 257,60 °C ( $P_{2,\text{YS}}$ : 21,6%), associado com a degradação da PIS. Dados da literatura indicam que a temperatura de degradação da PIS se encontra entre 292 a 331 °C (SCHMIDT, GIACOMELLI e SOLDI, 2005). Em todos esses casos, os filmes emulsionados apresentaram menor perda de massa que o filme controle. Para os filmes emulsionados, esse segundo estágio também pode ser atribuído à decomposição térmica do óleo de coco. A

temperatura inicial de degradação do óleo de coco puro é relatado na literatura em 257 °C, associado à ruptura dos hidrocarbonetos oxigenados presentes na fração volátil do óleo (JAYADAS e NAIR, 2006). O terceiro (306,83 a 333,12 °C) e o quarto estágio (318,14 a 364,4 °C) estão associados à decomposição da maior fração da PIS e de glicerol (KUMAR *et al.*, 2010).

De forma geral, é possível concluir que os filmes elaborados com YS apresentaram menor perda de massa que o filme controle ou elaborado com LS, indicando maior estabilidade térmica do sistema.

#### 4.2.7 Propriedades Morfológicas

As propriedades morfológicas dos filmes emulsionados foram investigadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de absorção no Infravermelho (FTIR). Essas técnicas são comumente utilizadas para ajudar a elucidar a estrutura de filmes compostos, bem como sua interação entre os componentes constituintes do meio.

##### 4.2.7.1 Microscopia Eletrônica de Varredura

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) pode ser utilizada para avaliar a homogeneidade da superfície dos filmes, sua estrutura, presença de poros e rachaduras. A análise foi realizada para os filmes emulsionados produzidos com as maiores proporções de surfactante (3:10, Surf:Gli) e OC (0,7:10, OC:PIS). As micrografias obtidas em diferentes ampliações (2000 X e 8000 X) são mostradas na FIGURA 19.

As micrografias obtidas para o controle (Figura 1A-C) revelaram uma superfície densa, contínua e com estrutura ordenada. É possível observar na superfície do filme controle glóbulos de glicerol (Figura 1B, indicado pela letra “a”), indicando provavelmente excesso de plastificante, o qual não foi visualizado a olho nu.

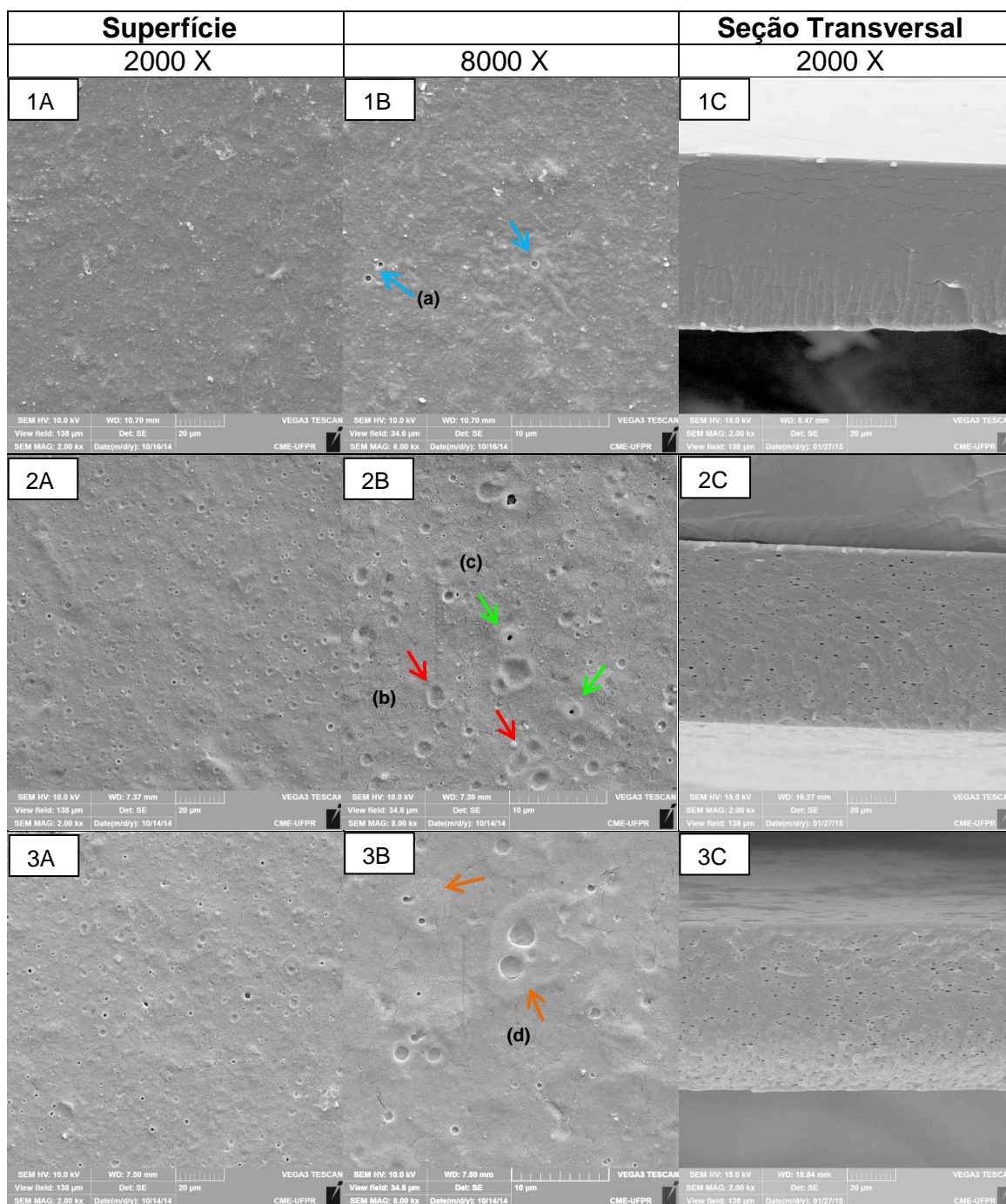


FIGURA 19 MICROGRAFIAS OBTIDAS POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV): FILME CONTROLE (1A-C), FILME EMULSIONADO UTILIZANDO LS COMO SURFACTANTE (2A-C) E FILME EMULSIONADO UTILIZANDO EXTRATO DE YS COMO SURFACTANTE (3A-C). As indicações mostradas na figura referem-se: (a) gotas de glicerol, indicado em azul; (b) glóbulos de emulsão, indicado em vermelho; (c) fissuras, indicado em verde; (d) micelas ao redor de glóbulos de gordura, indicado em laranja.

Controle: 6,5 g PIS/100 g DE SOLUÇÃO; 20 g etanol /100 g solução; 2,5:10 (GLI:PIS);  
 Emulsionado - LS: Filme controle + 3:10 (LS:GLI); 0,7:10 (OC:PIS);  
 Emulsionado - YS: Filme controle + 3:10 (YS:GLI); 0,7:10 (OC:PIS).

A incorporação de OC e dos surfactantes provocou modificações na estrutura dos filmes de PIS, como pode ser observado nas Figuras 2A-B (Filme emulsionado



produzido com LS) e 3A-B (Filme emulsionado produzido com YS). Os filmes emulsionados apresentaram superfície mais irregular quando comparado ao filme controle. A modificação na estrutura dos filmes compostos pode ser atribuída à falta de miscibilidade dos componentes (FABRA, TALENS e CHIRALT, 2009) e à incorporação de lipídios em altas proporções (BINSI, RAVISHANKAR e GOPAL, 2013).

A seção transversal dos filmes revelou a presença de poros nos filmes emulsionados (Figura 2C e 3C) provavelmente devido as bolhas de ar que foram incorporadas durante o processo de homogeneização dos filmes com a adição de surfactantes.

A formação de glóbulos de emulsão (indicado na figura pela letra “b”) após o processo de secagem bem como o aumento de poros no interior da estrutura interna foi visível nas micrografias dos filmes emulsionados, independente do surfactante utilizado. Uma vez que os glóbulos de gordura estão dispersos na superfície do filme emulsionado, era esperada uma redução na PVA dos filmes quando comparados ao controle, devido à natureza hidrofóbica do OC. Entretanto, esse mecanismo somente foi verificado quando YS foi utilizado como surfactante. Um mecanismo sugerido é que a emulsão formada nos filmes com LS não tenha sido estável suficiente para evitar o colapso das gotículas de OC quando estes filmes foram expostos à elevada umidade relativa, como, por exemplo, na análise de permeabilidade ao vapor de água (75% UR). A evaporação do solvente durante a secagem da solução formadora do filme pode induzir modificações na estrutura da emulsão, devido a fenômenos de desestabilização, como floculação, coalescência e separação da fase lipídica (FABRA, TALENS e CHIRALT, 2009). Além disso, a adição de lipídios promoveu uma variação na microestrutura dos filmes, o que pode estar relacionado à permeação de água na estrutura (WONG *et al.*, 1992). Nos filmes emulsionados com LS (Figura 2B) foram observados fissuras (indicado na figura pela letra “c”), os quais também podem ter facilitado a permeação de água.

Na imagem 3B, é possível observar a formação de micelas ao redor dos glóbulos de gordura (indicado pela letra “d”), sugerindo assim a formação de uma emulsão mais estável que aquela produzida com LS. O surfactante pode manter os glóbulos de gordura em suspensões coloidais e diminuir o seu colapso após o

processo de evaporação do solvente (TONGNUANCHAN, BENJAKUL e PRODPRAN, 2014).

Em trabalho desenvolvido por Andreuccetti e colaboradores (2010b), os autores verificaram que a adição de extrato de YS como surfactante na matriz proteica resultou na redução do tamanho das gotas de emulsão e consequentemente em um decréscimo nos valores de PVA em filmes de gelatina incorporado com plastificantes hidrofóbicos. Comparativamente a este trabalho, filmes elaborados com YS apresentaram menores valores de PVA, entretanto visualmente não foi observada a redução do tamanho de gotas de lipídios. Essa diferença pode estar associada à diferença estrutural entre os dois tipos de proteína, uma vez que a gelatina é uma proteína do tipo miofibrilar e a PIS do tipo globular. A natureza das proteínas gera diferentes mecanismos de interações, influenciando na dispersão, estabilidade e propriedades finais dos filmes emulsionados.

A adição de OC e surfactantes modificaram a estrutura dos filmes de PIS devido à dispersão de glóbulos de gordura na matriz. Esse resultado está de acordo com o comportamento obtido para as demais propriedades, onde foram verificadas mudanças significativas após a incorporação destes componentes nos filmes.

#### 4.2.7.2 Espectroscopia de absorção no Infravermelho (FTIR)

Espectroscopia de absorção no infravermelho (FTIR) é uma técnica utilizada para avaliar interações entre os componentes constituintes dos filmes e, assim, auxiliar na caracterização estrutural de filmes compostos. A técnica de FTIR foi aplicada para examinar interações entre PIS, glicerol, OC e surfactantes. Os filmes investigados foram o controle e os que continham maiores concentrações de OC (0,7:10, OC:PIS) e surfactantes (3:10, Surf:Gli) na formulação, como ilustrado na FIGURA 20.

Em geral, todos os filmes exibiram comportamento similar, com ligeira redução na intensidade dos picos para os filmes emulsionados. O pico a  $1747\text{ cm}^{-1}$  foi verificado exclusivamente para os espectros dos filmes emulsionados. Isso porque essa banda de absorção é indicativa da presença do grupo éster carbonílico ( $\text{C}=\text{O}$ , alongamento), comum na molécula de triglicerídeo do OC (ROHMAN *et al.*, 2010). Essa banda foi evidenciada por outros trabalhos envolvendo filmes



biodegradáveis incorporados com óleos (CERQUEIRA *et al.*, 2012; GUERRERO *et al.*, 2011).

Picos com absorção entre 3000 e 3500  $\text{cm}^{-1}$  foram verificados em todos os espectros e são indicativos de vibrações de alongamento dos grupos O-H e N-H (XU *et al.*, 2005; CHEN *et al.*, 2013). Os picos situados, em aproximadamente 3278  $\text{cm}^{-1}$  (Controle), 3279  $\text{cm}^{-1}$  (Filme emulsionado – LS) e 3276  $\text{cm}^{-1}$  (Filme emulsionado – YS), podem ser atribuídos à ligações de hidrogênio entre as proteínas e a água (SU *et al.*, 2010) e à interação entre as cadeias proteína e o óleo (TONGNUANCHAN, BENJAKUL e PRODPRAN, 2014). A ligeira redução na amplitude observada para os filmes emulsionados pode ser atribuída à redução das interações proteína-proteína (TONGNUANCHAN, BENJAKUL e PRODPRAN, 2014), devido à incorporação de óleo na estrutura ou ao recobrimento dos grupos funcionais da proteína pelo óleo (BAHRAM *et al.*, 2014).

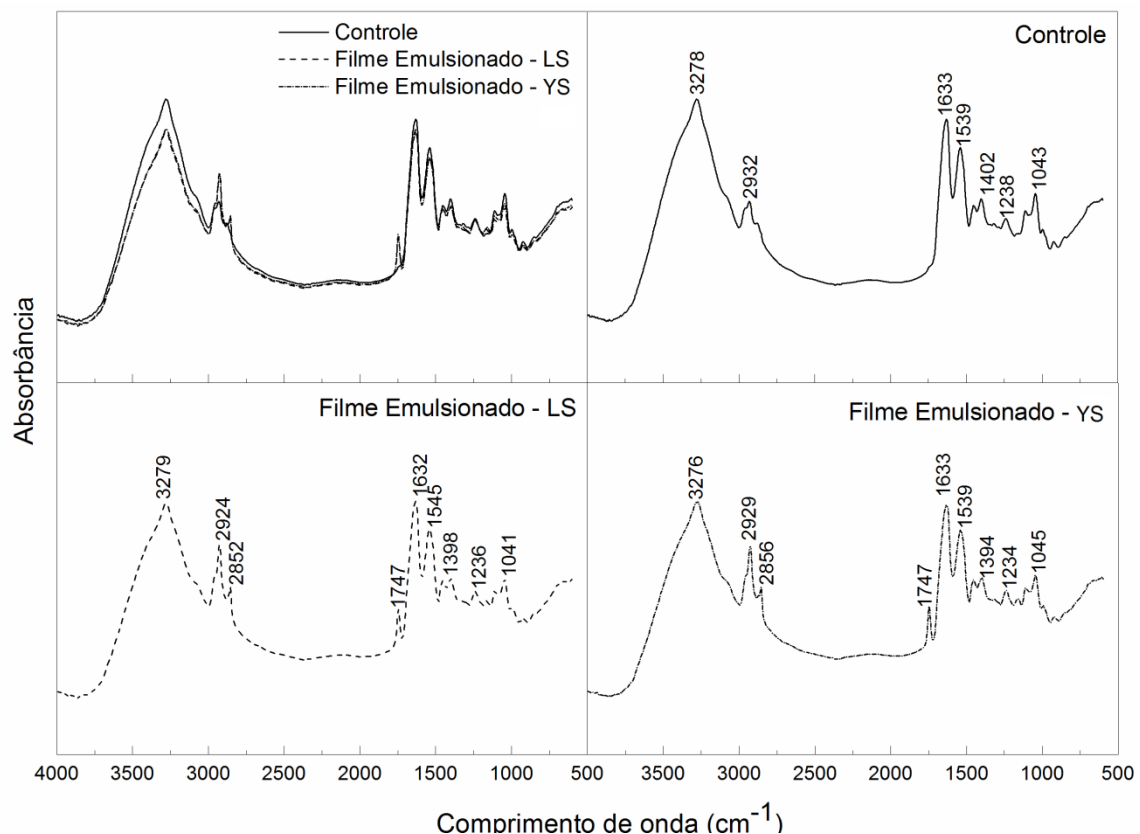


FIGURA 20 ESPECTROS DE FTIR PARA O FILME CONTROLE E OS FILMES EMULSIONADOS PRODUZIDOS COM LS (LECITINA DE SOJA) OU YS.

Controle: 6,5 g PIS/100 g DE SOLUÇÃO; 20 g etanol /100 g solução; 2,5:10 (GLI:PIS);  
Emulsionado - LS: Filme controle + 3:10 (LS:GLI); 0,7:10 (OC:PIS);  
Emulsionado - YS: Filme controle + 3:10 (YS:GLI); 0,7:10 (OC:PIS).

Picos no comprimento de onda variando entre 3700 a 2700  $\text{cm}^{-1}$  podem ser correlacionados ao alongamento O-H do grupo fosfato da lecitina (ANDREUCETTI *et al.*, 2011), e na banda de 3600 a 3000  $\text{cm}^{-1}$  aos grupos alcóolicos, representados pelos componentes hidroxil das frações da molécula de saponina (ANDREUCETTI *et al.*, 2010b).

A banda entre 2800 e 3000  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída à vibrações de alongamento do grupo C-H (CERQUEIRA *et al.*, 2012). Os picos situados próximos a essa região podem ser associados a interações hidrofóbicas (VALENZUELA, ABUGOCH e TAPIA, 2013), como evidenciado pela maior intensidade de pico dos filmes emulsionados. Era esperado um pico relativo a ligações hidrofóbicas, independente das formulações, afinal, a metodologia de produção dos filmes envolveu três possíveis mecanismos de desnaturação das proteínas, por calor, por condições alcalinas e por cisalhamento. Desta forma, acredita-se que a desnaturação mesmo que parcial, levou à ruptura da estrutura terciária e assim a exposição dos grupos hidrofóbicos alocados interior da estrutura proteica. Nos filmes emulsionados, este pico apresentou maior amplitude que o controle, devido à presença de OC e dos componentes hidrofóbicos dos surfactantes, o que sugere um aumento da hidrofobicidade dos filmes de PIS. No filme elaborado com YS, foi verificada uma redução na PVA de aproximadamente 35,36% quando comparado ao controle. Entretanto, quando LS foi utilizado como surfactante, para essa formulação foi verificado um aumento na PVA destes filmes, ou seja, mesmo que tenha sido evidenciado um aumento na hidrofobicidade destes filmes, é possível supor que o OC ou a LS não se associou completamente aos demais componentes da matriz. Os resultados de alongação podem auxiliar a confirmar esse mecanismo, uma vez que o OC está possivelmente disperso no meio atuando como lubrificante, mas não ligado aos demais componentes.

Os picos situados próximo ao comprimento de onda de 1633  $\text{cm}^{-1}$  sugerem a presença do estiramento do grupo C=O (amida I) (XU *et al.*, 2005; CHEN *et al.*, 2013) e na próximos a 1539  $\text{cm}^{-1}$  correspondem ao dobramento do grupo N-H da proteína, e do estiramento do grupo C-N (Amida II). Os grupamentos próximos à região de 1043  $\text{cm}^{-1}$  foram verificados em todas as amostras, sugerindo a presença do grupamento O-H, possivelmente correspondente ao glicerol (BERGO e SOBRAL, 2007).

Pela técnica de FTIR foi possível observar diferenças na intensidade das absorbâncias em algumas regiões entre os filmes emulsionados e controle. Quando OC e os surfactantes foram adicionados na matriz de PIS, algumas ligações provavelmente foram rompidas (proteína-proteína) e outras possivelmente formadas (proteína-óleo, proteína-surfactante), refletindo na intensidade dos sinais. Assim, esses resultados associados às demais propriedades, sugerem que a incorporação de OC e surfactantes influenciaram as interações moleculares entre os componentes dos filmes e, conseqüentemente, nas propriedades verificadas nos filmes desenvolvidos.

#### 4.2.8 Produção de sachês para armazenamento de azeite de oliva a partir dos filmes emulsionados com LS

Azeite de oliva foi embalado em sachês produzidos a partir dos filmes emulsionados, utilizando LS como surfactante. Os sachês foram armazenados em condições reais de estocagem (30 °C, 60% RH, simulação de período diurno/noturno) por 28 dias, com o objetivo de estimar a susceptibilidade ou a estabilidade do óleo embalado nessas condições. Essa aplicação foi realizada de modo preliminar para proporcionar um indicativo da capacidade de barreira ao oxigênio desses filmes, uma vez que este é o principal responsável pela alteração da qualidade em azeites. Se a qualidade do azeite pudesse ser mantida, se teria indiretamente, um indicativo da permeabilidade ao oxigênio das embalagens. A estabilidade oxidativa do azeite de oliva foi monitorada por meio da análise de peróxidos, como pode ser observado na TABELA 16.

As formulações utilizadas - *Embalagem Controle com LS* (6,5% PIS (m/m), 20% etanol (m/m), 2,5:10 (GLI:PIS), 1:10 (LS:GLI)), *Formulação G* (6,5% PIS (m/m), 20% etanol (m/m), 2,5:10 (GLI:PIS), 1:10 (LS:GLI) e 0,7:10 (OC:PIS)) e *I* (6,5% PIS (m/m), 20% etanol (m/m), 2,5:10 (GLI:PIS), 1:10 (LS:GLI) e 0,1:10 (OC:PIS)) foram escolhidas segundo os resultados das análises mecânicas (RT e ELO), PVA e opacidade. O filme emulsionado G foi a formulação com maior flexibilidade (273,94%), maior opacidade (6,31 AU x nm/μm) e com baixo valor de PVA (6,75 g/m s Pa). O filme emulsionado I apresentou propriedades com comportamento oposto ao filme G e foi escolhido para verificar se essas propriedades poderiam influenciar

na aplicabilidade dos sachês. O filme *controle com LS* foi produzido sem a adição de OC, mas com adição de LS (1:10, LS:Gli) a fim de investigar a influência do OC na estabilidade do azeite de oliva.

TABELA 16 ANÁLISE DE PERÓXIDOS DO AZEITE DE OLIVA EMBALADO NO SACHÊ DE FILMES EMULSIONADO COM LS.

Peróxidos ( $m_{eq}/1000g$ de amostra) (IP)			
Tempo (Dias)	Controle com LS	Formulação G	Formulação I
0	$7,590 \pm 0.011^{aA}$	$7,590 \pm 0.011^{aA}$	$7,590 \pm 0.011^{aA}$
7	$10,785 \pm 0.842^{aA}$	$10,148 \pm 0.265^{aAB}$	$9,702 \pm 0.294^{aAB}$
14	$11,545 \pm 0.521^{aAB}$	$10,657 \pm 0.081^{aAB}$	$11,418 \pm 1.501^{aB}$
21	$12,008 \pm 0.022^{aAB}$	$12,203 \pm 0.100^{aB}$	$12,562 \pm 0.794^{aB}$
28	$12,939 \pm 0.010^{aB}$	$13,197 \pm 0.976^{aB}$	$11,164 \pm 0.021^{aB}$

EMBALAGEM CONTROLE: 6,5% PIS (m/m), 20% ETANOL (m/m), 2,5:10 (GLI:PIS), 1:10 (LS:GLI) E 0:10 (OC:PIS).

Formulação G 1: 6,5% PIS (m/m), 20% ETANOL (m/m), 2,5:10 (GLI:PIS), 1:10 (LS:GLI) E 0,7:10 (OC:PIS).

Formulação I: 6,5% PIS (m/m), 20% ETANOL (m/m), 2,5:10 (GLI:PIS), 1:10 (LS:GLI) E 0,1:10 (OC:PIS).

Valores de peróxidos são médias  $\pm$  desvio padrão de cada formulação ( $n=3$ ). Médias com diferentes letras são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras minúsculas (comparação entre todas as formulações em dias fixos (linhas)); Letras maiúsculas (comparação entre os dias em formulações fixas (colunas)).

Os resultados revelaram que os índices de peróxido (IP) aumentaram com tempo de estocagem independente da formulação dos sachês. Após 7 dias de estocagem, os IP aumentaram rapidamente, aproximadamente 42,09%, 33,70% e 27,82% para o Filme Controle com LS, Formulação G e I, respectivamente. A oxidação dos lipídios nos primeiros estágios de estocagem pode ocorrer devido ao consumo de oxigênio presente no interior das embalagens (*headspace*) (CHO, LEE e RHEE, 2010). Decorrido esses primeiros 7 dias, o IP no óleo aumentou de forma mais lenta até atingir os 28 dias de estocagem. Estudos publicados na literatura (TABELA 8) mostraram que filmes de PIS foram mais eficientes para reduzir a permeação de oxigênio em embalagens quando comparado a alguns filmes sintéticos, como nylon/polietileno linear de baixa densidade catalizado por metaloceno (CHO, LEE e RHEE, 2010) e ao polietileno de baixa densidade

(ARVANITOYANNIS et al., 1998). Baseado nos resultados e na literatura, provavelmente as reações de oxidação cessaram devido ao completo consumo de oxigênio no interior dos sachês.

Não foram observadas diferenças significativas na estabilidade do azeite de oliva decorrente das formulações avaliadas. Era esperado que embalagens mais opacas retardassem a rancidez, isso porque na presença de oxigênio, a luz promove a oxidação de ácidos graxos insaturados (foto-oxidação) (SCRIMGEOUR, 2005). Entretanto, a opacidade das embalagens não minimizou a velocidade das reações de oxidação, ou seja, a adição de OC nos filmes emulsionados não exerceu efeito adicional na redução da rancidez oxidativa do azeite quando comparado com as amostras acondicionadas nos sachê Controle com LS.

O limite máximo permitido de IP para assegurar a qualidade do azeite de oliva é de 20 meq/kg de amostra (CODEX STAN 33-1981, Rev. 1-1989, 2001). No presente estudo, após 28 dias de estocagem, o IP do azeite embalado nos sachês (11,164 a 13,197 meq/1000g de amostra) não atingiu o limite máximo regulado pela legislação.

Desta forma, os filmes de PIS adicionado de OC e LS podem ser uma alternativa na produção de sachês uma vez que a integridade destes foi mantida durante a estocagem do produto. Entretanto, mais estudos são necessários com o objetivo de melhorar a resistência destas embalagens. Adicionalmente, medidas diretas de permeabilidade ao oxigênio destas embalagens devem ser realizadas a fim de elucidar melhor os parâmetros que influenciam a permeação desse gás. Outras estratégias também podem ser utilizadas para manter a estabilidade do óleo, como a utilização de vácuo nestas embalagens, atmosfera inerte, ou a incorporação de antioxidantes naturais.

## 5 CONCLUSÃO

A metodologia desenvolvida neste trabalho permitiu a elaboração e a caracterização funcional de filmes emulsionados, e permitiu conhecer seu potencial como embalagem para alimentos. A seguir, são apresentadas as principais conclusões envolvendo as abordagens levantadas.

De modo geral, todas as propriedades avaliadas foram influenciadas pelo tipo do surfactante e pela adição do óleo de coco, indicando que a inclusão destes compostos levou à formação de diferentes estruturas com diferentes propriedades funcionais.

A transparência dos filmes foi dependente da proporção de óleo na matriz, onde o seu uso crescente nas formulações levou ao aumento na opacidade dos filmes. Os filmes apresentaram baixa solubilidade em meio aquoso, independente da formulação aplicada. A permeabilidade ao vapor de água foi fortemente influenciada pelo tipo de surfactante empregado, sendo seus valores somente reduzidos quando YS foi utilizada como surfactante. A adição combinada de YS e OC levou à redução do valor da PVA em 35,4%. O óleo de coco promoveu a flexibilidade dos filmes, independente do surfactante utilizado. Os filmes elaborados com LS foram mais flexíveis e menos resistentes do que os filmes com YS.

Os filmes emulsionados apresentaram maior estabilidade térmica, sendo este efeito evidenciado principalmente nos filmes elaborados com YS. A incorporação dos surfactantes modificou a estrutura superficial e interna dos filmes. Os filmes emulsionados apresentaram glóbulos de OC dispersos na matriz e aumento de poros na seção transversal. A adição de OC e dos surfactantes aumentou a hidrofobicidade da matriz e influenciou as interações moleculares entre as cadeias de proteína.

A boa flexibilidade dos filmes produzidos com LS permitiu a elaboração de sachês para acondicionamento de azeite de oliva. A oxidação lipídica do azeite de oliva aumentou rapidamente nos primeiros dias de estocagem, após esse período, não foram verificadas diferenças significativas na qualidade do óleo até o tempo final de estocagem. A integridade dos sachês foi mantida durante o período de estocagem.

Comparando os dois surfactantes, o extrato de YS foi o que se mostrou mais apropriado para o sistema avaliado, devido a sua facilidade de manuseio e por resultar em filmes com melhores propriedades, quando comparado a LS. Entretanto, a formulação mais apropriada deve ser ajustada de acordo com as características finais dos produtos a serem estocados.

Os resultados obtidos neste trabalho representam uma contribuição positiva na área de filmes compostos, uma vez que expõem de forma abrangente os efeitos referentes à incorporação de surfactantes e de lipídios numa matriz proteica. Ademais, filmes biodegradáveis representam uma área em ascensão, promissora tanto para a melhora na qualidade de vida quanto para a promoção de alternativas sustentáveis às embalagens derivadas de componentes não renováveis.

## 6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Caracterização das emulsões das soluções formadoras de filme (caracterização reológica e determinação do balanço Balanço Hidrófilo-Liófilo das emulsões);
- Avaliação do potencial antioxidante da lecitina de soja e do extrato de *Yucca schidigera* quando aplicado aos filmes;
- Determinação do potencial bacteriostático do óleo de coco nos filmes;
- Produção de sachês com os filmes emulsionados utilizando *Yucca schidigera* como surfactante;
- Investigação da aplicação de mono e diglicerídeos de ácido láurico para atuar simultaneamente como emulsificante e componente hidrofóbico nos filmes emulsionados;



## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIPLAST. **Perfil 2013 – Indústria Brasileira de Transformação de material plástico**. Disponível em: <<http://www.abiplast.org.br/site/estatisticas>>. Acesso em: 31/03/2015.

AGRAWAL, P. K.; BUNSAWANSONG, P.; MORRIS, G. A. Complete assignment of the  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of steroidal sapogenins: Smilagenin and sarsasapogenin. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 35, n. 7, p. 441-446, 1997.

ANDREUCCETTI, C. **Desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis a base de gelatina, plastificantes hidrofóbicos e surfactantes naturais**. 243 f. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Alimentos e Nutrição, Unicamp, Campinas, 2010a.

ANDREUCCETTI, C.; CARVALHO, R. A.; GALICIA-GARCÍA, T.; MARTÍNEZ-BUSTOS, F.; GROSSO, C. R. F. Effect of surfactants on the functional properties of gelatin-based edible films. **Journal of Food Engineering**, v. 103, n. 2, p. 129-136, 2011.

ANDREUCCETTI, C.; CARVALHO, R. A.; GROSSO, C. R. F. Effect of hydrophobic plasticizers on functional properties of gelatin-based films. **Food Research International**, v. 42, n. 8, p. 1113-1121, 2009.

ANDREUCCETTI, C.; CARVALHO, R. A.; GROSSO, C. R. F. Gelatin-based films containing hydrophobic plasticizers and saponin from *YS schidigera* as the surfactant. **Food Research International**, v. 43, n. 6, p. 1710-1718, 2010b.

ANTONIOU, J.; LIU, F.; MAJEED, H.; QAZI, H. J.; ZHONG, F. Physicochemical and thermomechanical characterization of tara gum edible films: Effect of polyols as plasticizers. **Carbohydrate Polymers**, v. 111, p. 359-365, 2014.

AOCS, (2001). **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society**, 5a ed., Champaign:AOCS Press, , 2001.

APCC - Asian and Pacific Coconut Community. **Standard for virgin coconut oil**. Disponível em: <<http://www.apccsec.org/document/VCO-STANDARDS.pdf>>. Acesso em: 14/04/2015.

ARVANITOYANNIS, I.; BILIADERIS, C. G.; OGAWA, H.; KAWASAKI, N. Biodegradable films made from low-density polyethylene (LDPE), rice starch and potato starch for food packaging applications: Part 1. **Carbohydrate Polymers**, v. 36, n. 2-3, p. 89-104, 1998.

ASTM Standard D882. "Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting". ASTM International, West Conshohocken, PA, DOI: 10.1520/D0882-12. Disponível em: <<http://www.astm.org>>. Acesso em 03 de julho de 2012.

ASTM Standard D883-12. "Standard terminology relating to plastics". ASTM International, West Conshohocken, PA, DOI: 10.1520/D0883-12. Disponível em: <<http://www.astm.org>>. Acesso em 17 de julho de 2015.

ASTM. Standard E96/E96M. "Standard test methods for water vapor transmission of materials". ASTM International, West Conshohocken, PA, DOI: 10.1520/E0096\_E0096M. Disponível em: <<http://www.astm.org>>. Acesso em 24 de fevereiro de 2013.

ATARÉS, L.; de JESÚS, C.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Characterization of SPI-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. **Journal of Food Engineering**, v. 99, n. 3, p. 384-391, 2010.

BAHRAM, S.; REZAEI, M.; SOLTANI, M.; KAMALI, A.; OJAGH, S. M.; ABDOLLAHI, M. Whey protein concentrate edible film activated with cinnamon essential oil. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 38, n. 3, p. 1251-1258, 2014.

BALDWIN, E. A.; HAGENMAIER, R. D. **Edible coatings and films to improve food quality**. 2 ed. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2012.

BELYAMANI, I.; PROCHAZKA, F.; ASSEZAT, G. Production and characterization of sodium caseinate edible films made by blown-film extrusion. **Journal of Food Engineering**, v. 121, p. 39-47, 2013.

BERGO, P.; SOBRAL, P. J. A. Effects of plasticizer on physical properties of pigskin gelatin films. **Food Hydrocolloids**, v. 21, n. 8, p. 1285–1289, 2007.

BERTAN, L. C.; FAKHOURI, F. M.; SIANI, A. C.; GROSSO, C. R. F. Influence of the addition of lauric acid to films made from gelatin, triacetin and a blend of stearic and palmitic acids. **Macromolecular Symposia**, v. 229, n. 1, p. 143–149, 2005a.

BERTAN, L. C.; TANADA-PALMU, P. S.; SIANI, A. C.; GROSSO, C. R. F. Effect of fatty acids and ‘Brazilian elemi’ on composite films based on gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 19, n. 1, p. 73-82, 2005b.

BERTAN, L. C. Desenvolvimento e caracterização de biofilmes ativos à base de polímeros de fontes renováveis e sua aplicação no acondicionamento de pães de forma. 188 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos – Unicamp, Campinas, 2008.

BINSI, P. K.; RAVISHANKAR, C. N.; GOPAL, S. Development and characterization of and edible composite film based on chitosan and virgin coconut oil with improved moisture sorption properties. **Journal of Food Science**, v. 78, n. 4, p. E526-E534, 2013.

BRAVIN, B.; PERESSINI, D.; SENSIDONI, A. Influence of emulsifier type and content on functional properties of polysaccharide lipid-based edible films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 21, p. 6448-6455, 2004.

BUFFO, R. A.; HAN, J. H. Edible films and coatings from plant or origin proteins. In: HAN, J. H. (ed) **Innovations in food packaging**. London: Elsevier Academic Press, 2005. p. 277-300.

CALLEGARIN, F.; GALLO, J-A Q; DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A Lipids and Biopackaging. **Journal of American Oil Chemistry Society**, v. 74, n. 10, p. 1183-1192, 1997.

CANAPI, E. C.; AUGUSTIN, Y. T. V.; MORO, E. A. PEDROSA, E.; LUZ, J. M.; BENDAÑO, J. Coconut oil. In: SAHIDI, F. (Ed.), **Bailey’s Industrial Oil and Fat Products: Edible Oil and Fat Products: Specialty Oils and Oil Products**, v. 2, 6a ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, 2005, p. 123 – 148.

CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G.; CERQUEIRA, M. A.; SOUZA, B. W. S.; SOUZA, M. P. Physical properties of edible coatings and films made with a polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. **Journal of Food Engineering**, v. 95, n. 3, p. 379-385, 2009.

CAVALLET, O. Análise do ciclo de vida da soja. 220 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Departamento de Engenharia de Alimentos, Unicamp, Campinas, 2008.

CERQUEIRA, M. A.; SOUZA, B. W. S.; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A. Effects of interactions between the constituents of chitosan-edible films on their physical properties. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 8, p. 3181-3192, 2012.

CHANG, C.; NICKERSON, M. T. Effect of plasticizer-type and genipin on the mechanical, optical, and water vapor barrier properties of canola protein isolate-based edible films. **European food research and technology**, v. 238, n. 1, p. 35-46, 2014.

CHAO, Z.; YUE, M.; XIAOYAN, Z.; DAN, M. Development of Soybean protein-isolate edible films incorporated with beeswax, Span 20 and Glycerol. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 6, p. C493-C497, 2010.

CHEEKE, P. R. Actual and potential applications of *YS schidigera* and *Quillaja saponaria* saponins in human and nutrition. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 1-10, 2000.

CHEN, C-H.; KUO, W-S.; LAI, L-S. Effect of surfactants on water barrier and physical properties of tapioca starch/decolorized hsian-tsao leaf gum films. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 3, p. 714–721, 2009.

CHEN, X.; RU, Y.; CHEN, F.; WANG, X.; ZHAO, X.; AO, Q. FTIR spectroscopic characterization of soy proteins obtained through AOT reverse micelles. **Food Hydrocolloids**, v. 31, n. 2, p. 435-437, 2013.

CHIUMARELLI, M.; HUBINGER, M. D Evaluation of edible films and coatings formulated with cassava starch, glycerol, carnauba wax and stearic acid. **Food Hydrocolloids**, v. 38, p. 20-27, 2014.

CHINMA, C. E.; ARIAHU, C. C.; ALAKALI, J. Moisture sorption and thermodynamic properties of cassava starch and soy protein concentrate based edible films. **International journal of food science & technology**, v. 48, n. 11, p. 2400 - 2407, 2013.

CHO, S. Y.; LEE, S. Y.; RHEE, C. Edible oxygen barrier bilayer film pouches from corn zein and soy protein isolate for olive oil packaging. **LWT-Food Science and Technology**, v. 43, n. 8, p. 1234-1239, 2010.

CHO, S. Y.; PARK, J-W.; BATT, H. P.; THOMAS, R. L. Edible films made from membrane processed soy protein concentrates. **LWT-Food Science and Technology**, v. 40, n. 3, p. 418-423, 2007.

CHO, S. Y.; RHEE, C. Mechanical properties and water vapor permeability of edible films made from fractionated soy proteins with ultrafiltration. **LWT - Food Science and Technology**, v. 37, n. 8, p. 833-839, 2004.

CHOVE, B. E.; GRANDISON, A. S.; LEWIS, M. J. Some functional properties of fractionated soy protein isolates obtained by microfiltration. **Food hydrocolloids**, v. 21, n. 8, p. 1379 -1388, 2007.

CODEx STAN 210. Codex standard for named vegetable oils. **Codex Alimentarius**, 1999.

CODEx STAN 33-1981 (Rev. 1-1989). **Codex Alimentarius. Fats, Oils and Related Products**, 2001.

CONAB – Companhia Nacional de abastecimento: Séries históricas relativas às safras 1976/77 a 2013/2014 de área plantada, produtividade e produção brasileira. Disponível em <<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1028&t=2>>. Acesso em: 28 de janeiro de 2015.

CUQ, B.; GONTARD, N.; GUILBERT, S. Proteins as agricultural polymers for packaging production. **Cereal Chemistry**, v. 75, n. 1, p. 1-9, 1998.

DALGHEISH, D. Food Emulsions: Their structures and Properties. In: FRIBERG, S. E.; LARSSON, K.; SJÖBLOM, J. **Food Emulsion**, 4a ed. . New York : Marcel Dekker. p. 2004

DAMODARAN, S. Aminoácidos, Peptídeos e Proteínas. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA O. R., **Fennema's Food Chemistry**, 4a ed. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2008. p. 217-330.

DAMODARAN, S. Structure-Function Relationship of Food Proteins. In: HETTIARACHCHY, N. S.; ZIEGLER, G. R. (Eds.) **Protein Functionality in Food Systems**, New York: Marcel Dekker, 1994. p. 1-37.

DANGARAN, K.; TOMASULA, P. M.; QI, P. Structure and function of protein-based edible films and coatings. EMUSCADO, I. M.; HUBER, K. C. (Eds.) **Edible film and coatings for food applications** (pp. 25-56). New York: Springer, 2009. p. 25-56.

DEBEAUFORT, F.; QUEZADA-GALLO, J-A.; DELPORTE, B.; VOILLEY, A. Lipid hydrophobicity and physical state effects on the properties of bilayer edible films. **Journal of membrane science**, v. 180, n. 1, p. 47 -55, 2000.

DE LA CABA, K.; PEÑA, C.; CIANNAMEA, E. M.; STEFANI, P. M.; MONDRAGON, I.; RUSECKAITE, R. A. Characterization of soybean protein concentrate—stearic acid/palmitic acid blend edible films. **Journal of applied polymer science**, v. 124, n. 3, p. 1796 -1807, 2012.

DENAVI, G.; TAPIA-BLÁCIDO, D. R.; AÑÓN, M. C.; SOBRAL, P. J. A.; MAURI, A. N.; MENEGALLI, F. C. Effects of drying conditions on some physical properties of soy protein films. **Journal of Food Engineering**, v. 90, n. 3, p. 341-349, 2009.

DIA, V. P.; GARCIA, V. V.; MABESA, R. C.; TECSON-MENDOZA, E. M. Comparative physicochemical characteristics of virgin coconut oil produced by different methods. **Philippine Agricultural Sciences**, v. 88, n. 4, p. 462-475, 2005.

ENCYCLOPAEDIA BRITANNICA. Glycerol – Chemical Compound. Disponível em: <<http://global.britannica.com/EBchecked/topic/236029/glycerol>>. Acesso em: 08/04/2015.

FABRA, M. J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Microstructure and optical properties of sodium caseinate films containing oleic acid–beeswax mixtures. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 3, p. 676-683, 2009.

FAKHOURY, F. M.; MARTELLI, S. M.; BERTAN, L. C.; YAMASHITA, F.; MEI, I. L. H.; QUEIROZ, F. P. Edible films made from blends of manioc starch and gelatin – Influence of different types of plasticizer and different levels of macromolecules on their properties. **LWT–Food Science and Technology**, v. 49, n. 1, p. 149-154, 2012.

FDA- Food and Drug Administration. Natural flavoring substances and natural substances used in conjunction with flavors (Section 172.510). Code of Federal Regulations, 2014.

FERNÁNDEZ-PAN, I.; ROYO, M.; MATÉ, J. I. Antimicrobial activity of whey protein isolate edible films with essential oils against food spoilers and foodborne pathogens. **Journal of food science**, v. 77, n. 7, p. M383 -M390, 2012.

FERNÁNDEZ, L.; APODACA de, E. D.; CEBRIÁN, M.; VILLARÁN, C.; MATÉ, J. I. Effect of the unsaturation degree and concentration of fatty acids on the properties of WPI-based edible films. **European Food Research and Technology**, v. 224, n. 4, p. 415 - 420, 2007.

GALLO, J-A. Q.; DEBEAUFORT, F.; CALLEGARIN, F.; VOILLEY, A. Lipid hydrophobicity, physical state and distribution effects on the properties of emulsion-based edible films. **Journal of Membrane science**, v. 180, n. 1, p. 37-46, 2000.

GALUS, S.; LENART, A. Development and characterization of composite edible films based on sodium alginate and pectin. **Journal of Food Engineering**, v. 115, n. 4, p. 459–465, 2013.

GENNADIOS, A.; WELLER, C. L.; TESTIN, R. F. Modification on physical and barrier properties of edible wheat gluten-based films. **Cereal Chemistry**, v. 70, n. 4, p. 426-429, 1993.

GÓMEZ-ESTACA, J.; MONTERO, P.; FERNÁNDEZ-MARTÍN, F.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. Physico-chemical and film-forming properties of bovine-hide and

tuna-skin gelatin: A comparative study. **Journal of Food Engineering**, v. 90, n. 4, p. 480–486, 2009.

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J-L.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat and lipids: water vapour permeability and other physical properties. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 29, n. 1, p. 39-50, 1994.

GONTARD, N. THIBAUT, R. CUQ, B.; GUILBERT, S. Influence of relative humidity and film composition on oxygen and carbon dioxide permeabilities of edible films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p. 1064-1069, 1996.

GUERRERO, P.; HANANI NUR, Z. A.; KERRY, J. P.; de la CABA, K. Characterization of soy protein-based films prepared with acids and oils by compression. **Journal of Food Engineering**, v. 107, n. 1, p. 41-49, 2011.

GUILBERT, S.; GONTARD, N.; GORRIS, L. G. M. Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. **LWT-Food Science and Technology**, v. 29, n. 1-2, p. 10-17, 1996.

GUNSTONE, F. D.; HERSLÖF, B. G. **Lipid Glossary 2**. Bridgwater: Barnes & Associates, 2000. p. 202.

HAMMANN, F.; SCHMID, M. Determination and quantification of molecular interactions in protein films: A review. **Materials**, v. 7, n. 12, 7975-7996, 2014.

HASENHUETTL, G. L. Overview of Food Emulsifiers. In: HASENHUETTL, G. L.; HARTEL, R. W. (Ed.) **Food Emulsifiers and Their Applications**, 2a ed. New York: Springer, 2008a. p. 1-10.

HASENHUETTL, G. L. Synthesis and Commercial Preparation of Food Emulsifiers. In: HASENHUETTL, G. L.; HARTEL, R. W. (Ed.) **Food Emulsifiers and Their Applications**, 2a ed. New York: Springer, 2008b. p. 11-38.

HILDEBRAND, D. H.; TERAOKA, J.; KITO, M. Phospholipids plus tocopherols increase soybean oil stability. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 61, n. 3, p. 552-555, 1984.



HIEMENZ, P. C.; RAJAGOPALAN, R. Colloidal Structures in Surfactant Solutions: Association Colloids. In: HIEMENZ, P. C.; RAJAGOPALAN, R. **Principles of Colloid and Surface Chemistry**, 3a ed. Revised and Expanded, New York, New York: Marcel Dekker, 1997. p. 355-404.

HOGAN, D. E.; VERES-SCHALNAT, T. A.; PEMBERTON, J. E.; MAIER, R. M. Biosurfactant Complexation of Metals and Applications for Remediation. In: MULLIGAN, C. N.; SHARMA, S. K.; MUDHOO, A. (Ed). **Biosurfactants: Research Trends and Applications**. Boca Raton: CRC Press, 2014. p. 277-308.

HOPKINS, E. J.; CHANG, C.; LAM, R. S. H.; NICKERSON, M. T. Effects of flaxseed oil concentration on the performance of a soy protein isolate-based emulsion-type film. **Food Research International**, v. 67, p. 418-425, 2015.

HOSTETTMANN, K.; MARSTON, A. **Saponins**. New York: Cambridge University Press, 1995. p. 1-12.

HU, H.; WU, J.; LI-CHAN, E. C. Y.; ZHU, L.; ZHANG, F.; XU, X.; FAN, G.; WANG, L.; HUANG, X.; PAN, S. Effects of ultrasound on structural and physical properties of soy protein isolate (SPI) dispersions. **Food Hydrocolloids**, v. 30, n. 2, p. 647–655, 2013.

HUGHES, G. J.; RYAN, D. J.; MUKHERJEA, R.; SCHASTEEN, C. S. Protein digestibility-corrected amino acid scores (PDCAAS) for soy protein isolates and concentrate: criteria for evaluation. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 59, n. 23, p. 12707 - 12712, 2011.

JAYADAS, N. H.; NAIR, K. P. Coconut oil as base oil for industrial lubricants-evaluation and modification of thermal, oxidative and low temperature properties. **Tribology International**, v. 39, n. 9, p. 873–878, 2006.

JENSEN, A.; LIM, L-T.; BARBUT, S.; MARCONE, M. Development and characterization of soy protein films incorporated with cellulose fibers using a hot surface casting technique. **LWT - Food Science and Technology**, v. 60, n. 1, p. 162–170, 2015.

JIANG, J.; XIONG, Y. L.; NEWMAN, M. C.; RENTFROW, G. K. Structure-modifying alkaline and acid pH-shifting promote film formation of soy proteins. **Food Chemistry**, v. 132, n. 4, p. 1944-1950, 2012.

JUDDE, A.; VILLENEUVE, P.; ROSSIGNOL-CASTERA, A.; GUILLOU, A. L. Antioxidant effect of soy lecithins on vegetable oil stability and their synergism with tocopherols. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 80, n. 12, p. 1209-1215, 2003.

KANEDA, N.; NAKANISHI, H.; STABA, E. J. Steroidal constituents of *YS shidigera* plants and tissue cultures. **Phytochemistry**, v. 26, n. 5. p. 1425-1429, 1987.

KEERATI-U-RAI, M.; CORREDIG, M. Heat-Induced changes occurring in oil/water emulsions stabilized by soy glycinin and  $\beta$ -conglycinin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 16, p. 9171-9180, 2010.

KIM, K. M.; MARX, D. B.; WELLER, C. L.; HANNA, M. A. Influence of sorghum wax, glycerin, and sorbitol on physical properties of soy protein isolate films. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 80, n. 1, p. 71 -76, 2003.

KIM, S-J.; USTONOL, Z. Solubility and moisture sorption isotherms of whey-protein-based edible films as influenced by lipid and plasticizer incorporation. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 49, n. 9, p. 4388 - 91, 2001.

KING, M. F.; BOYDE, L. C.; SHELDON, B. W. Antioxidant properties of individual phospholipids in a Salmon oil model system. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 69, n. 6, p. 545-551, 1992.

KOKOSKA, S.; DEBEAUFORT, F.; HAMBLETON, A.; LENART. A.; VOILLEY, A. Protein and glycerol contents affect physic-chemical properties of soy protein isolate-based edible films. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, n. 3, p. 503-510, 2010.

KOWALCZYK, D.; BARANIAK, B. Effect of candelilla wax on functional properties of biopolymer emulsion films – A comparative study. **Food Hydrocolloids**, v. 41, p. 195-209, 2014.

KOWALCZYK, M.; PECIO, L.; STOCHMAL, A.; OLESZEK, W. Qualitative and quantitative analysis of steroidal saponins in crude extract and bark powder of *Yucca schidigera* Roezl. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 15, p. 8058-8064, 2011.

KRISTO, E.; BILIADERIS, C. G.; ZAMPRAKA, A. Water vapour barrier and tensile properties of composite caseinate-pullulan films: Biopolymer composition effects and impact of beeswax lamination. **Food chemistry**, v. 101, n. 2, p. 753 -764, 2007.

KRISHNA, M.; NINDO, C. I.; MIN, S. C. Development of fish gelatin edible films using extrusion and compression molding. **Journal of Food Engineering**, v. 108, n. 2, p. 337-344, 2012.

KROCHTA, J. M. Film, Edible. In: YAM, K. L. (Ed.) **The Wiley Encyclopedia of Packaging**, 3a ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2009. p. 457-464.

KROCHTA, J. M.; MILLER, K. S. Oxygen and aroma barrier properties of edible films: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 8, n. 7, p. 228-237, 1997.

KUMAR, P.; SANDEEP, K. P.; ALAVI, S.; TRUONG, V. D.; GORGA, R. E. (2010). Preparation and characterization of bio-nanocomposite films based on soy protein isolate and montmorillonite using melt extrusion. **Journal of Food Engineering**, v. 100, n. 3, p. 480-489, 2010.

LEE, J-H.; LEE, J.; SONG, K. B. Development of a chicken feet protein film containing essential oils. **Food hydrocolloids**, v. 46, p. 208-215, 2015.

LIMPISOPHON, K.; TANAKA, M.; OSAKO, K. Characterisation of gelatin-fatty acid emulsion films based on blue shark (*Prionace glauca*) skin gelatin. **Food Chemistry**, v. 122, n. 4, p. 1095-1101, 2010.

LIU, L. S.; KOST, J. Biobased materials. In: YAM, K. L. **The Wiley Encyclopedia of Packaging**, 3a ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2009. p. 110-115.

LUO, L-J.; LIU, F.; TANG, C-H. The role of glycinin in the formation of gel-like soy protein-stabilized emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 32, n. 1, p. 97-105, 2013.

MA, W.; TANG, C-H.; YIN, S-W.; YANG, X-Q.; WANG, Q.; LIU, F.; WEI, Z-H. Characterization of gelatin-based edible films incorporated with olive oil. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 572-579, 2012.

MARCONDES, P. D. G.; DARBY, D. O (2009). Testing, packaging materials. In: YAM, K. L. (Ed.) **The Wiley Encyclopedia of Packaging**, 3a ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2009. p. 1202-1207.

MARCUZZO, E.; PERESSINI, D.; DEBEAUFORT, F., SENSIDONI, A. Effect of ultrasound treatment on properties of gluten-based film. **Innovative food science & emerging technologies**, v. 11, n. 3, p. 451-457, 2010.

MARINIELLO, L.; PIERRO DI, P.; ESPOSITO, C.; SORRENTINO, A.; MASI, P.; PORTA, R. Preparation and mechanical properties of edible pectin–soy flour films obtained in the absence or presence of transglutaminase. **Journal of Biotechnology**, v. 102, n. 2, p. 191-198, 2003.

MARINA, A. M.; CHE MAN, Y. B.; NAZIMAH, S. A. H.; AMIN, I. Chemical Properties of Virgin Coconut Oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 86, n. 4, p. 301–307, 2009a.

MARINA, A. M.; CHE MAN, Y. B.; NAZIMAH, S. A. H.; AMIN, I. Antioxidant capacity and phenolic acids of virgin coconut oil. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 60, p. 114–123, 2009c.

MARTINS, J. T.; CERQUEIRA, M. A.; BOURBON, A. I.; PINHEIRO, A. C.; SOUZA, B. W. S.; VICENTE, A. A. Synergistic effects between k-carrageenan and locust bean gum on physicochemical properties of edible films made thereof. **Food Hydrocolloids**, v. 29, n. 2, p. 280-288, 2012.

McCLEMENTS, D. J. Emulsion Ingredients. In: McCLEMENTS, D. J. **Food Emulsions: Principles, Practice and Techniques**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1999.

MILLER, K. S; KROCHTA, J. M. Oxygen and aroma barrier properties of edible films: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 8, n. 7, p. 228-237, 1997.

MITRA, S.; DUNGAN, S. Cholesterol Solubilization in Aqueous Micellar Solutions of Quillaja Saponin, Bile Salts, or Nonionic Surfactants, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 384-394, 2001.

MITRA, S.; DUNGAN, S. Micellar Properties of Quillaja Saponin. 1. Effects of Temperature, Salt, and pH on Solution Properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 5., p. 1587-1595, 1997.

MITRA, S.; DUNGAN, S. Micellar properties of quillaja saponin. 2. Effect of solubilized cholesterol on solution properties. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 17, n. 2, p. 117-133, 2000.

MYERS, D. Surfactants in Solution: Monolayers and Micelles. In: MYERS, D. **Surfactant Science and Technology**, 3a ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, 2006. p. 107-159.

MOJUMDAR, S. C.; MORESOLI, C.; SIMON, L. C.; LEGGE, R. L. Edible wheat gluten (WG) protein films. **Journal of thermal analysis and calorimetry**, v. 104, n. 3, p. 929 -936, 2011.

NELSON, D. L; COX, M. M. Estrutura das proteínas. In: NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger. Princípios de Bioquímica**. 3 ed. New York: W. H. Freeman & Co, 2002. p. 123-158.

O'BRIEN, R. D. **Fats and oils: Formulating and processing for applications**. New York: CRC Press, 2004.

O'BRIEN, R. D. Raw materials. In: O'BRIEN, R. D. **Fats and oils: Formulating and processing for applications**. 3a ed. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2009. p. 1-72.

OU, S.; WANG, Y.; TANG, S.; HUANG, C.; JACKSON, M. G. Role of ferulic acid in preparing edible films from soy protein isolate. **Journal of Food Engineering**, v. 70, n. 2, p. 205-210, 2005.

OZDEMIR, M.; FLOROS, J. Optimization of edible whey protein films containing preservatives for water vapor permeability, water solubility and sensory characteristics. **Journal of Food Engineering**, v. 86, n. 2, p. 215-224, 2008.

PAN, Y.; TIKEKAR, R. V.; NITIN, N. Effect of antioxidant properties of lecithin emulsifier on oxidative stability of encapsulated bioactive compounds. **International journal of pharmaceutics**, v. 450, n. 1-2, p. 129 -137, 2013.

PASSARINHO, A. T. P.; DIAS, N. F.; CAMILLOTO, G. P.; CRUZ, R. S.; OTONI, C. G.; MORAES, A. R. F.; SOARES, N. F. Sliced bread preservation through oregano essential oil-containing sachet. **Journal of Food Processing Engineering**, v. 37, p. 53-62, 2014.

PLASTICSEUROPE. Association of Plastics Manufactures. **Plastics – the Facts2014/2015**. Disponível em: <<http://www.plasticseurope.org>>. Acesso em: 31/03/2015.

PAVLATH, A. E.; ORTS, W. Edible Films and Coatings: Why, What, and How? In: EMBUSCADO, M. E.; HUBER, K. C. (Eds). **Edible films and Coatings for Food Applications**. New York: Springer, 2009. p. 1-24.

PENG, Y.; YIN, LU.; YUNFEI, L. Combined effects of lemon essential oil and surfactants on physical and structural properties of chitosan films. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 1, p. 44–50, 2013.

PEREDA, M.; AMICA, G.; MARCOVICH, N. E. Development and characterization of edible chitosan/oil emulsion films. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 2, p. 1318-1325, 2012.

PÉREZ-GAGO, M. B. Protein-based films and coatings. In: BALDWIN, E. A.; HAGENMAIER, R.; BAI, J (Eds). **Edible Coatings and Films to Improve Food Quality**, 2a ed. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2012. p. 13-78.

PÉREZ-GAGO, M. B.; NADAUD, P.; KROCHTA, J. M. Water vapor permeability, solubility and tensile properties of heat-denatured versus native whey protein films. **Journal of Food Science**, v. 64, n. 6, p. 1034 – 1037, 1999.

PETRUCCELLI, S.; AÑÓN, M. C. Relationship between the method of obtention and the structural and functional properties of soy protein isolates. 1. Structural and hydration properties. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 42, n. 10, p. 2161 – 2169, 1994.

PEYCHÈS-BACH, A.; MOUTOUNET, M.; PEYRON, S.; CHALIER, P. Factors determining the transport coefficients of aroma compounds through polyethylene films. **Journal of Food Engineering**, v. 95, n. 1, p. 45-53, 2009.

PIACENTE, S.; MONTORO, P.; OLESZEK, W.; PIZZA, C. (2004). *Yucca schidigera* bark: Phenolic constituents and antioxidant activity. *Journal of Natural Products*, v. 67, n. 5, p. 882-885, 2004.

PIRES, C.; RAMOS, C.; TEIXEIRA, B.; BATISTA, I.; NUNES, M. L.; MARQUES, A. Hake proteins edible films incorporated with essential oils: physical, mechanical, antioxidant and antibacterial properties. **Food hydrocolloids**, v. 30, n. 1, p. 224 - 231, 2013.

POPÓVIC, S.; PERICIN, D.; VASTAG, Z.; LAZIC, V.; POPOVIC, L. Pumpkin oil cake protein isolate films as potential gas barrier coating. **Journal of Food Engineering**, v. 110, n. 3., p. 374-379, 2012.

PRUNEDA, E.; PERALTA-HERNÁNDEZ, J. M.; ESQUIVEL, K., LEE, S. Y.; GODÍNEZ, L. A.; MENDONZA, S. Water vapor permeability, mechanical properties and antioxidant effect of mexican oregano–soy based edible films. **Journal of food science**, v. 73, n. 6, p. C488 -C493, 2008.

QU, P.; HUANG, H.; WU, G.; SUN, E.; CHANG, Z. Effects of hydrolysis degree of soy protein isolate on the structure and performance of hydrolyzed soy protein isolate/urea/formaldehyde copolymer resin. **Journal of applied polymer science**, v. 132, n. 7, 2015.

RAMOS, O. L.; REINAS, I.; SILVA, S.; FERNANDES, J. C.; CERQUEIRA, M. A.; PEREIRA, R. N.; VICENTE, A. A.; POÇAS, M. F.; PINTADO, M. E.; MALCATA, F. X. Effect of whey protein purity and glycerol content upon physical properties of edible films manufactured therefrom. **Food Hydrocolloids**, v. 30, n. 1, p. 110–122, 2013.

REZVANI, E.; SCHLEINING, G.; SÜMEN, G.; TAHERIAN, A.R. Assessment of physical and mechanical properties of sodium caseinate and stearic acid based film-forming emulsions and edible films. **Journal of Food Engineering**, v. 116, n. 2, p. 598-605, 2013.

RHIM, J. W.; SHELLHAMMER, T. H. Lipid-based edible films and coatings. In: HAN, J. H. **Innovations in Food Packaging**. London, U.K.: Academic Press, 2005. p. 362–383

RHIM, J. W.; GENNADIOS, A.; WELLER, C. L.; HANNA, M. A. Sodium dodecyl sulfate treatment improves properties of cast films from soy protein isolate. **Industrial Crops and Products**, v. 15, n. 3, p. 199-205, 2002.

RHIM, J-W.; MOHANTY, K. A.; SINGH, S. P.; NG, P. K. W. Preparation and properties of biodegradable multilayer films based on soy protein isolate and poly(lactide). **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 45, n. 9, p. 3059-3066, 2006.

RODRÍGUEZ, M.; OSÉS, J.; ZIANI, K.; MATÉ, J. I. Combined effect of plasticizers and surfactants on the physical properties of starch based edible films. **Food Research International**, v. 39, n. 8, p. 840-846, 2006.

ROHMAN, A.; CHE MAN, Y. B.; ISMAIL, A.; HASHIM, P. Application of FTIR Spectroscopy for the determination of virgin coconut oil in binary mixtures with olive oil and palm oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 87, n. 6, p. 601-606, 2010.

RYAN, M.; McEVOY, E.; DUIGNAN, S.; CROWLEY, C.; FENELON, M.; O'CALLAGHAN, D. M.; FITZGERALD, R. J. Thermal stability of soy protein isolate and hydrolysate ingredients. **Food Chemistry**, v. 108, n. 2, p. 503 – 510, 2008.

SANTACRUZ-REYES, R. A.; CHIEN, Y-H. The potential of YS schidigera extract to reduce the ammonia pollution from shrimp farming. **Bioresource Technology**, v. 113, p. 311-314, 2012.

SANTACRUZ, S.; RIVADENEIRA, C.; CASTRO, M. Edible films based on starch and chitosan. Effect of starch source and concentration, plasticizer, surfactant's hydrophobic tail and mechanical treatment. **Food Hydrocolloids**, v. 49, p. 89-94, 2015.



SAREMNEZHAD, S.; AZIZI, M. H.; BARZEGAR, M.; ABBASI, S.; AHMADI, E.; Properties of a new edible film made of Faba bean protein isolate. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 13, p. 181-192, 2011.

SAUCEDO-POMPA, S.; ROJAS-MOLINA, R.; AGUILERA-CARBÓ, A. F.; SAENZ-GALINDO, A.; GARZA de La.; H.; JASSO-CANTÚ, D.; AGUILAR, C. N. Edible film based on *candelilla* wax to improve the shelf life and quality of avocado. **Food Research International**, v. 42, n. 4, p. 511-515. 2009.

SCHMIDT, V.; GIACOMELLI, C.; SOLDI, V. Thermal stability of films formed by soy-protein isolate-sodium dodecyl sulfate. **Polymer Degradation and Stability**, v. 87, n. 1, p. 25-31, 2005.

SCHMID, M.; SÄNGERLAUB, S.; WEGE, L.; STÄBLE, A. Properties of Transglutaminase Crosslinked whey protein isolate coatings and cast films. **Packaging Technology and Science**, v. 27, n. 10, p. 799-817, 2014. p. 1- 43.

SCRIMGEOUR, C. Chemistry of Fatty acids. In: SHAHIDI, F. (Ed.), **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**, 6a ed. vol. 1. Hoboken : John Wiley & Sons, 2005.

SHIH, F. F. Film-forming properties and edible films of plant proteins. **Nahrung**, v. 42, n. 3- 4, p. 254–256, 1998.

SHIT, S. C.; SHAH, P. M. Edible Polymers: Challenges and Opportunities. **Journal of Polymers**, p. 1- 13, 2014.

SIKORSKI, Z. E. Proteins. In: SIKORSKI, Z. E. **Chemical and Functional Properties of Food Components**, 2a ed. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2002. p. 133-178.

SKURTYS, O.; AGUILERA, J. M. Formation of O/W macroemulsions with a circular microfluidic device using saponin and potato starch. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 7, p. 1810–1817, 2009.

SOAZO, M.; PÉREZ, L. M.; RUBIOLO, A. C.; VERDINI, R. A. Effect of freezing on physical properties of whey protein emulsion films. **Food Hydrocolloids**, v. 31, n. 2, p. 256-263, 2013.

SONG, X.; ZHOU, C.; FU, F.; CHEN, Z.; WU, Q. Effect of high-pressure homogenization on particle size and film properties of soy protein isolate. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 538-544, 2013.

SOTHORNVIT, R.; KROCHTA, J. M. Plasticizers in edible films and coatings. In: HAN, J. H. **Innovations in Food Packaging**. London, U.K.: Elsevier Academic Press, 2005. p. 403-428.

SOUZA, S. M. A. **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis biodegradáveis a base de proteínas miofibrilares de origem bovina**. 224 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia de Alimentos, Unicamp, Campinas, 2001.

SOUZA, C. O.; SILVA, L. T.; SILVA, J. R.; LÓPEZ, J. A.; VEIGA-SANTOS, P.; DRUZIAN, J. I. Mango and acerola pulp as antioxidant additives in cassava starch bio-based film. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 6, p. 2248-2254, 2011.

STANIMIROVA, R.; MARINOVA, K.; TCHOLAKOVA, S.; DENKOV, N. D.; STOYANOV, S.; PELAN, E. Surface Rheology of Saponin Adsorption Layers. **Langmuir**, v. 27, n. 20, p. 12486 – 12498, 2011.

SZUHAJ, B. F. Lecithins. In: SAHIDI, F. (Ed.), **Bailey's Industrial Oil and Fat Products: Edible Oil and Fat Products: Specialty Oils and Oil Products**, v. 3, 6a ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, 2005, p. 361 - 456.

STAUFFER, C. E. Emulsifiers for the food industry. In: SAHIDI F. (Ed.) **Bailey's Industrial Oil and Fat Products: Edible Oil and Fat Products: Products and Applications**, v. 4, 6a ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, 2005. p. 229-268.

SUCHARZEWSKA, D.; STOCHMAL, A.; OLESZEK, W. The effect of YS schidigera extract on the physical structure and on the oxidative stability of sugar-candy foam products. **Food science & technology**, v. 36, n. 3, p. 347 - 351, 2003.

TAPIA-BLÁCIDO, D.; MAURI, A. N.; MENEGALLI, F. C.; SOBRAL, P. J. A.; AÑÓN, M. C. Contribution of the starch, protein, and lipid fractions to the physical, thermal,

and structural properties of Amaranth (*Amaranthus caudatus*) flour films. **Journal of food science**, v. 72, n. 5, p. E293 -E300, 2007.

THARANATHAN, R. N. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. **Trends in Food Science & Technology**, v. 14, n. 3, p. 71–78, 2003.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Structural, morphological and thermal behavior characterisations of fish gelatin film incorporated with basil and citronella essential oils as affected by surfactants. **Food Hydrocolloids**, v. 41, p. 33-43, 2014.

USDA (2015). United States Department of Agriculture. Data and Statistics: Soybeans: Word Supply and Distribution. Disponível em: <[http://www.usda.gov/wps/portal/usda/usdahome?navid=DATA\\_STATISTICS](http://www.usda.gov/wps/portal/usda/usdahome?navid=DATA_STATISTICS)>. Acesso em: 24 /03/ 2015.

VALENZUELA, C.; ABUGOCH, L.; TAPIA, C. Quinoa protein-chitosan-sunflower oil edible film: Mechanical, barrier and structural properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, n. 2, p. 531-537, 2013.

VEIGA-SANTOS, P.; DITCHFIELD, C.; TADINI, C. C. Development and evaluation of a novel pH indicator biodegradable film based on cassava starch. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 120, p. 1069–1079, 2011.

VICENTINI, N. M. **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis a base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita**. 198 f. Tese (Doutorado em Agronomia)- Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2003.

VILLALOBOS, R.; CHANONA, J.; HERNÁNDEZ, P.; GUTIÉRREZ, G.; CHIRALT, A. Gloss and transparency of hydroxypropyl methylcellulose films containing surfactants as affected by their microstructure. **Food Hydrocolloids**, v. 19, n. 1, p. 53-61, 2005.

WAN, V. C-H.; KIM, M. S.; LEE, S-Y. Water vapor permeability and mechanical properties of soy protein isolate edible films composed of different plasticizer combinations. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 6, p. 387 -391, 2005.

WANG, T. Soybean oil. In: F. D. GUNSTONE, F. D. (Ed.) **Vegetable oils in Food Technology: Composition, properties and uses**. Boca Raton, Florida : CRC Press, 2002. p. 18–58.

WANG, Z.; ZHOU, J.; WANG, X-X.; ZHANG, N.; SUN, X-X.; MA, Z-S. The effects of ultrasonic/microwave assisted treatment on the water vapor barrier properties of soybean protein isolate-based oleic acid/stearic acid blend edible films. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 51-58, 2014.

WELLER, C. L.; GENNADIOS, A.; SARAIVA, R. A. Edible Bilayer Films from zein and grain sorghum wax or carnauba wax. **LWT- Food science & technology**, v. 31, n. 3, p. 279–285, 1998.

WILSON, R. F. Soybean: Market Driven Research Needs. In: STACEY, G. (Ed.) **Genetics and Genomics of Soybean**. New York: Springer, 2008. p. 3 – 16.

WONG, D. W. S; GASTINEAU, F. A; GREGORSKI, S. S.; TILLIN, S. J; PAVLATH, A E. Chitosan-lipid films: microstructure and surface energy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 4, p. 540-544, 1992.

XU, Y. X.; KIM, K. M.; HANNA, M. A.; NAG, D. Chitosan–starch composite film: preparation and characterization. **Industrial Crops and Products**, v. 21, n. 2, p. 185–192, 2005.

YAM, K. L. Gas barrier properties: effects of small leaks. In: YAMK. L. (Ed.). **The Wiley Encyclopedia of Packaging**. 3a ed.Hoboken: John Wiley & Sons, 2009a. p. 547-565.

YAM, K. L. Gas permeation of packaging materials. In: YAMK. L. (Ed.). **The Wiley Encyclopedia of Packaging**. 3a ed.Hoboken: John Wiley & Sons, 2009b. p. 551-555.

YANG, L.; PAULSON, A. T. Effects of lipids on mechanical and moisture barrier properties of edible gellan film. **Food Research International**, v. 33, n. 7, p. 571-578, 2000.

ZAHEDI, Y.; GHANBARZADEH, B.; SEDAGHAT, N. Physical properties of edible emulsified films based on pistachio globulin protein and fatty acids. **Journal of Food Engineering**, v. 100, n. 1, p. 102-108, 2010.

ZHAO, Y. Application of commercial coatings. In: BALDWIN, E. A.; HAGENMAIER, R.; BAI, J (Eds). **Edible Coatings and Films to Improve Food Quality**, 2a ed. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2002. p. 319-331.

ZHANG, H.; MITTAL, G. Biodegradable protein-based films from plant resources: A review. **Environmental Progress & Sustainable Energy**, v. 29, n. 2, 2010.

ZHANG, Y.; HANG, J. H. Plasticization of pea starch films with monosaccharides and polyols. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 6, p. E253 -E261, 2006.

## APÊNDICES

TABELA A1 OPACIDADE DOS FILMES EMULSIONADOS PRODUZIDOS COM SURFACTANTES, LECITINA DE SOJA (LS) OU SAPONINA DE *YUCCA. SCHIDIGERA* (YS) E ÓLEO DE COCO (OC).

Filme*	Surf:Gli (m:m)	OC:PIS (m:m)	Opacidade (AU x nm/μm)	
			LS	YS
A	3:10	0,7:10	6,10 ± 0,64 <sup>bCDE</sup>	4,97 ± 0,50 <sup>abB</sup>
B	3:10	0,4:10	5,99 ± 0,17 <sup>bCDE</sup>	5,22 ± 0,52 <sup>bB</sup>
C	3:10	0,1:10	3,93 ± 0,17 <sup>aA</sup>	4,14 ± 0,05 <sup>aAB</sup>
D	2:10	0,7:10	6,28 ± 0,26 <sup>cDE</sup>	6,63 ± 0,10 <sup>cC</sup>
E	2:10	0,4:10	5,23 ± 0,24 <sup>bBC</sup>	4,94 ± 0,50 <sup>bB</sup>
F	2:10	0,1:10	3,94 ± 0,19 <sup>aA</sup>	3,61 ± 0,17 <sup>aA</sup>
G	1:10	0,7:10	6,31 ± 0,12 <sup>cE</sup>	6,75 ± 0,71 <sup>bC</sup>
H	1:10	0,4:10	5,41 ± 0,50 <sup>bBCD</sup>	5,18 ± 0,52 <sup>aB</sup>
I	1:10	0,1:10	4,01 ± 0,04 <sup>aA</sup>	4,07 ± 0,10 <sup>aAB</sup>
Controle	0	0	4,53 ± 0,18 <sup>AB</sup>	4,53 ± 0,18 <sup>AB</sup>

\* Todas as formulações contêm: Proteína isolada de soja (PIS): 6,5% (m/m); Etanol: 20% (m/m); Glicerol (Gli): 2,5:10 (Gli:PIS). Valores de opacidade são médias ± desvio padrão de cada formulação (n=3). Médias com diferentes letras são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (p < 0,05): letras maiúsculas (comparação entre todas as formulações incluindo a formulação controle); letras minúsculas (comparação entre as concentrações fixas de surfactante).

TABELA A2 PERMEABILIDADE AO VAPOR D'ÁGUA (PVA) DOS FILMES EMULSIONADOS PRODUZIDOS COM SURFACTANTES, LECITINA DE SOJA (LS) OU SAPONINA DE *YUCCA SCHIDIGERA* (YS) E ÓLEO DE COCO (OC).

Filme *	PVA (g/ m s Pa)			
	Surf:Gli (m:m)	OC:PIS (m:m)	LS	YS
A	3:10	0,7:10	$(8,13 \pm 0,39) \times 10^{-11bCD}$	$(3,60 \pm 0,17) \times 10^{-11aA}$
B	3:10	0,4:10	$(10,10 \pm 0,04) \times 10^{-11cE}$	$(5,62 \pm 0,44) \times 10^{-11bB}$
C	3:10	0,1:10	$(5,99 \pm 0,71) \times 10^{-11aA}$	$(6,85 \pm 0,45) \times 10^{-11cC}$
D	2:10	0,7:10	$(9,27 \pm 0,55) \times 10^{-11aDE}$	$(3,82 \pm 0,10) \times 10^{-11aA}$
E	2:10	0,4:10	$(9,01 \pm 0,25) \times 10^{-11aDE}$	$(3,69 \pm 0,08) \times 10^{-11aA}$
F	2:10	0,1:10	$(9,11 \pm 0,14) \times 10^{-11aDE}$	$(4,11 \pm 0,06) \times 10^{-11bA}$
G	1:10	0,7:10	$(6,75 \pm 0,58) \times 10^{-11aAB}$	$(7,51 \pm 0,72) \times 10^{-11aC}$
H	1:10	0,4:10	$(7,61 \pm 0,31) \times 10^{-11aBC}$	$(7,23 \pm 0,30) \times 10^{-11aC}$
I	1:10	0,1:10	$(12,0 \pm 0,06) \times 10^{-11bF}$	$(7,40 \pm 0,58) \times 10^{-11aC}$
Controle	0	0	$(5,57 \pm 0,30) \times 10^{-11A}$	$(5,57 \pm 0,30) \times 10^{-11B}$

\* Todas as formulações contêm: Proteína isolada de soja (PIS): 6,5% (m/m); Etanol: 20% (m/m); Glicerol (Gli): 2,5:10 (Gli:SPI). Valores de PVA são médias  $\pm$  desvio padrão de cada formulação (n=3). Médias com diferentes letras são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ): letras maiúsculas (comparação entre todas as formulações incluindo a formulação controle); letras minúsculas (comparação entre as concentrações fixas de surfactante).

TABELA A3 PROPRIEDADES MECÂNICAS: ELONGAÇÃO (ELO%) DO FILME CONTROLE E DOS FILMES EMULSIONADOS PRODUZIDOS COM SURFACTANTES, LECITINA DE SOJA (LS) OU SAPONINA DE *YUCCA SCHIDIGERA* (YS) E ÓLEO DE COCO (OC).

Filme*	ELO (%)			
	Surfact:Gli (m:m)	OC:PIS (m:m)	LS	YS
A	3:10	0,7:10	211,94 ± 9,79 <sup>cD</sup>	177,81 ± 31,17 <sup>bB</sup>
B	3:10	0,4:10	136,77 ± 8,88 <sup>aB</sup>	103,82 ± 12,55 <sup>aA</sup>
C	3:10	0,1:10	155,92 ± 12,29 <sup>bBC</sup>	94,51 ± 15,97 <sup>aA</sup>
D	2:10	0,7:10	250,01 ± 27,84 <sup>cE</sup>	250,78 ± 23,45 <sup>cE</sup>
E	2:10	0,4:10	213,69 ± 27,09 <sup>bD</sup>	211,87 ± 12,24 <sup>bC</sup>
F	2:10	0,1:10	168,64 ± 16,39 <sup>aC</sup>	100,16 ± 12,59 <sup>aA</sup>
G	1:10	0,7:10	273,94 ± 15,04 <sup>bE</sup>	184,70 ± 25,01 <sup>bBC</sup>
H	1:10	0,4:10	162,71 ± 15,91 <sup>aC</sup>	187,17 ± 26,81 <sup>bBC</sup>
I	1:10	0,1:10	154,17 ± 13,81 <sup>aBC</sup>	159,31 ± 12,54 <sup>aB</sup>
Controle	0	0	103,75 ± 16,78 <sup>A</sup>	103,75 ± 16,78 <sup>A</sup>

\* Todas as formulações contêm: Proteína isolada de soja (PIS): 6,5% (m/m); Glicerol (Gli): 2,5:10 (Gli:PIS). Valores de ELO são médias ± desvio padrão de cada formulação (n=10). Médias com diferentes letras são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (p < 0,05): letras maiúsculas (comparação entre todas as formulações incluindo a formulação controle); letras minúsculas (comparação entre as concentrações fixas de surfactante).



TABELA A4 PROPRIEDADES MECÂNICAS: RESISTÊNCIA À TRAÇÃO (RT) DO FILME CONTROLE E DOS FILMES EMULSIONADOS PRODUZIDOS COM SURFACTANTES, LECITINA DE SOJA (LS) OU SAPONINA DE *YUCCA SCHIDIGERA* (YS) E ÓLEO DE COCO (OC).

Filme*	RT (%)			
	Surf:Gli (m:m)	OC:PIS (m:m)	LS	YS
A	3:10	0,7:10	8,09 ± 0,77 <sup>aA</sup>	12,06 ± 0,47 <sup>aCD</sup>
B	3:10	0,4:10	12,19 ± 0,43 <sup>cE</sup>	12,60 ± 0,60 <sup>aCD</sup>
C	3:10	0,1:10	9,44 ± 0,76 <sup>bBC</sup>	12,85 ± 1,07 <sup>aD</sup>
D	2:10	0,7:10	7,65 ± 0,48 <sup>aA</sup>	10,61 ± 0,97 <sup>bB</sup>
E	2:10	0,4:10	8,65 ± 0,81 <sup>bAB</sup>	9,02 ± 0,45 <sup>aA</sup>
F	2:10	0,1:10	10,89 ± 1,23 <sup>cD</sup>	14,07 ± 0,56 <sup>cE</sup>
G	1:10	0,7:10	7,70 ± 0,38 <sup>aA</sup>	12,00 ± 0,46 <sup>aCD</sup>
H	1:10	0,4:10	9,71 ± 0,57 <sup>cC</sup>	12,17 ± 0,61 <sup>aCD</sup>
I	1:10	0,1:10	8,36 ± 0,50 <sup>bA</sup>	11,71 ± 0,66 <sup>aC</sup>
Controle	0	0	12,05 ± 0,61 <sup>E</sup>	12,05 ± 0,61 <sup>CD</sup>

\* Todas as formulações contêm: Proteína isolada de soja (PIS): 6,5% (m/m); Glicerol (Gli): 2,5:10 (Gli:SPI). Valores de RT são médias ± desvio padrão de cada formulação (n=10). Médias com diferentes letras são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (p < 0,05): letras maiúsculas (comparação entre todas as formulações incluindo a formulação controle); letras minúsculas (comparação entre as concentrações fixas de surfactante).